

ผลของแบคทีริโอซินร่วมกับกรดแลคติกต่อการลด  
จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสุกร

EFFECT OF BACTERIOCIN AND LACTIC ACID ON REDUCTION  
OF MICROORGANISMS IN PORK

ชนัญญา กงทะสร  
CHANANYA KONGTASORN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นผลงานหนึ่งของภาควิชาตามหัตถ์เกษตรปรัญญา วิทยาลัยเกษตรกรรมทวาย

สาขาวิชาสัตวศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2547

ISBN 974-15-1339-9

ผลของแบคทีริโอซินร่วมกับกรดแลคติกต่อการลด  
จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสุกร

EFFECT OF BACTERIOCIN AND LACTIC ACID ON REDUCTION  
OF MICROORGANISMS IN PORK



ชัญญา กงทะสร  
CHANANYA KONGTASORN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาสัตวศาสตร์  
บัณฑิตวิทยาลัย  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
พ.ศ. 2547  
ISBN 974-15-1339-9

เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน..... 56693  
วัน,เดือน,ปี 4 ก.ค. 2548



EFFECT OF BACTERIOCIN AND LACTIC ACID ON REDUCTION  
OF MICROORGANISMS IN PORK

CHANANYA KONGTASORN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE IN ANIMAL SCIENCE  
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2004

ISBN 974-15-1339-9

COPYRIGHT 2004

SCHOOL OF GREDUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG



หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของแบคทีเรียโอสตินร่วมกับกรดแลคติกต่อการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสุกร
นักศึกษา	นางสาว ชนัญญา กงทะสร
รหัสประจำตัว	43066404
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สัตวศาสตร์
พ.ศ.	2547
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. จุฑารัตน์ เศรษฐกุล
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	ผศ. อติสร เสวตวิวัฒน์

### บทคัดย่อ

การศึกษาผลของแบคทีเรียโอสตินร่วมกับกรดแลคติกต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสุกร โดยแบคทีเรียโอสตินที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นชนิด pediocin PA - 1 ผลิตจากเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ที่แยกได้จากแหนม แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง โดยในการทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาผลของแบคทีเรียโอสตินร่วมกับกรดแลคติกต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby, *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test) โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 4 log CFU/ml จัดกลุ่มทดลองแบบ 2x4x6 แฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ทำการศึกษา 3 ปัจจัย โดยปัจจัย A คือ ระดับของกรดแลคติก 2 ระดับ (0% และ 1%) ปัจจัย B คือ ระดับของแบคทีเรียโอสติน 4 ระดับ (0, 320 640 และ 1280 AU/ml) และปัจจัย C คือ เวลาที่ทำการศึกษา 6 ระยะเวลา (0, 6, 12, 18, 24 และ 30 ชั่วโมง) พบว่า การใช้ pediocin PA - 1 ร่วมกับกรดแลคติก 1% นั้น สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. Derby* ในทันทีที่สัมผัสสารละลายได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ pediocin PA - 1 หรือกรดแลคติก 1% แต่เพียงอย่างเดียว โดยเมื่อใช้ร่วมกับ pediocin PA - 1 ที่ระดับ 640 และ 1280 AU/ml ลดลงได้มากกว่าการใช้กรดแลคติก 1% เพียงอย่างเดียวถึง 0.13 และ 0.16 log CFU/ml ตามลำดับ ( $P < 0.01$ ) และมากกว่าการใช้ pediocin PA - 1 ที่ระดับ 640 และ 1280 AU/ml เพียงอย่างเดียวถึง 0.13 และ 0.11 log CFU/ml ตามลำดับ ( $P < 0.01$ ) แต่การใช้ pediocin PA - 1 ร่วมกับกรดแลคติก 1% ให้ผลในการลดปริมาณเชื้อ *S. Anatum* ไม่แตกต่างจากการใช้ pediocin PA - 1 หรือกรดแลคติก 1% เพียงอย่างเดียว ซึ่งการใช้ pediocin PA - 1 ในระดับสูง (1280 AU/ml) เพียงอย่างเดียวสามารถลดเชื้อลงได้ประมาณ 0.06 log CFU/ml ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 แต่การใช้ที่ระดับเดียวกันนี้ร่วมกับกรดแลคติก 1% ให้ประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน ( $P > 0.05$ ) การใช้กรดแลคติก 1% เพียงอย่างเดียวให้ประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากการใช้ pediocin PA - 1 320

AU/ml ในขณะที่การใช้กรดแลคติก 1% เพียงอย่างเดียวให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ดีกว่าการใช้ pediocin PA – 1 เพียงอย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับกรดแลคติก ซึ่งกรดแลคติก 1% สามารถลดปริมาณเชื้อได้ถึง 0.11 log CFU/ml ที่ชั่วโมงที่ 24 ของการศึกษา ( $P < 0.01$ )

การทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาผลของแบคทีเรียโอสซินร่วมกับกรดแลคติกต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน จัดกลุ่มทดลองแบบ 3x3x5 แฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ทำการศึกษา 3 ปัจจัย โดยปัจจัย A คือ ระดับของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสซิน 3 ระดับ (0%, 1% + 640 AU/ml และ 1% + 1280 AU/ml) ปัจจัย B คือ อุณหภูมิการเก็บเนื้อ 3 ระดับ (0-4°C, 10-15°C และ 30-35°C) และปัจจัย C คือ ระยะเวลาที่ศึกษา 5 ระยะ (ก่อนจุ่มสารละลาย, ชั่วโมงที่ 0, 3, 6 และ 12) พบว่า การเก็บเนื้อที่อุณหภูมิ 0 - 4°C ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์บนผิวเนื้อลดต่ำลงอย่างต่อเนื่องในทุกกลุ่มการทดลองจากชั่วโมงที่ 0 จนถึง 12 ของการศึกษา ภายในชั่วโมงที่ 0 เนื้อที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml เก็บที่อุณหภูมิ 10-15°C พบว่ามีปริมาณเชื้อเท่ากับ 6.53 log CFU/ตร.ซม. ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.66 log CFU/ml ( $P < 0.01$ ) แต่หลังจากชั่วโมงที่ 3 ปริมาณเชื้อจะคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 12 ของการศึกษา ภายหลังจากการให้เนื้อสัมผัสกับสารละลายน้ำกลั่น และสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ทั้ง 2 ระดับ ปริมาณเชื้อจะถูกควบคุมให้คงที่ได้จนถึงชั่วโมงที่ 12 ของการศึกษา แม้ว่าจะเก็บที่อุณหภูมิ 30-35°C แต่การเก็บเนื้อที่อุณหภูมิต่ำนี้ร่วมกับการใช้กรดแลคติกและ pediocin PA – 1 มีผลให้ค่า pH ของเนื้อลดลงถึง ultimate pH ได้ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 (5.50 และ 5.47) และมีผลให้ค่าสี (L\*) ของเนื้อสูงที่สุด (54.03) ในชั่วโมงที่ 12 ของการศึกษา ( $P < 0.05$ )

การทดลองที่ 3 ศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสซินต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรชิ้นส่วนใหญ่ต่างกันที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน จัดกลุ่มทดลองแบบ 3x3 แฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ทำการศึกษา 2 ปัจจัย โดยที่ปัจจัย A คือ ระดับของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสซิน 3 ระดับ (0%, 1% + 640 AU/ml และ 1% + 1280 AU/ml) และปัจจัย B คือ เนื้อสุกรชิ้นส่วนใหญ่ 3 ชนิด (สันคอ, สันนอก และสามชั้น) พบว่าเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 ร่วมกับกรดแลคติก 1% มีผลให้ปริมาณจุลินทรีย์ลดลงมากขึ้นในเนื้อทุกชิ้นส่วน ( $P < 0.01$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และมีผลให้ค่า pH ของเนื้อทุกชิ้นส่วนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) และค่าสี (L\*) ที่วัดจากเนื้อสันนอกกลุ่มที่สัมผัสกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 1280 AU/ml มีค่าสีเนื้อสูงที่สุด เท่ากับ 56.07 แตกต่างจากกลุ่มที่ใช้ในระดับ 640 AU/ml (54.11) และกลุ่มควบคุม (52.07) ( $P < 0.05$ )

Thesis Title	Effect of Bacteriocin and Lactic Acid on Reduction of Microorganisms in Pork
Student	Miss Chananya Kongtasorn
Student ID.	43066404
Degree	Master of Science
Programme	Animal Science
Year	2004
Thesis Advisor	Assoc.Prof. Dr. Jutarat Sethakul
Thesis Co-advisor	Assist.Prof. Adisorn Swetwivathana

### ABSTRACT

This research was to study the effect of bacteriocin and lactic acid on reduction of microorganisms in pork. The bacteriocin type used in this study was pediocin PA – 1 from *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 isolated from Nham. (Thai fermented meat) The study consisted of 3 experiments. The first experiment the effect of bacteriocin and lactic acid on reduction of *Salmonella* Derby, *Salmonella* Anatum and *Staphylococcus aureus*. (*in vitro* test) , inoculated the starter culture approximately 4 log CFU/ml were studied. The experiment was conducted in 2x4x6 factorial arrangement in completely randomized design. Three factors were as followed : Factor A was 2 of lactic acid levels (0 and 1%), Factor B was 4 of bacteriocin levels (0, 320, 640 and 1280 AU/ml) and Factor C was 6 durations of study (0, 6, 12, 18, 24 and 30 hours). The results showed that the use of 1% lactic acid + pediocin PA – 1 could instantly and effectively reduce the counts of S. Derby better than the use of pediocin PA – 1 or lactic acid only. When lactic acid was used together with pediocin PA – 1 at 640 and 1280 AU/ml, the bacterial counts could be reduced to 0.13 and 0.16 log CFU/ml, respectively ( $P < 0.01$ ). The bacterial counts were reduced to 0.13 and 0.11 log CFU/ml when using only pediocin PA – 1 at 640 and 1280 AU/ml, respectively. There were no different among treatments in efficacy of reduction of S. Anatum ( $P > 0.05$ ) at 0<sup>th</sup> hour. When using only pediocin PA – 1 at the high concentration (1280 AU/ml), the bacterial counts could be reduced to 0.06 log CFU/ml after 6 hours but there was no significant difference compare to using

pediocin PA – 1 1280 AU/ml with 1% lactic acid ( $P>0.05$ ). There were no difference in efficacy between using 1% lactic acid and pediocin PA – 1 320 AU/ml. However, using only 1% lactic acid showed more efficacy on reduction of *S. aureus* than using either only pediocin PA – 1 or together with lactic acid which 1% lactic acid could reduce the counts to 0.11 log CFU/ml at h 24 ( $P<0.01$ ).

The second experiment was to study the effect of bacteriocin and lactic acid on reduction of microorganisms on the surface of pork from unhygienic slaughterhouses at different storage temperatures and storage times in 3x3x5 factorial arrangement in completely randomized design. Three factors were as followed : Factor A was 3 combinations of 1% lactic acid + pediocin PA – 1 (0%, 1% + 640 AU/ml and 1% + 1280 AU/ml). Factor B was 3 levels of the storage temperatures (0-4°C, 10-15°C and 30-35°C) and Factor C was 5 durations of storage(pre - dip,0, 3, 6 and 12 hours) .The results showed that the bacterial counts on meat surface in all treatments were continuously reduced from h 0 to h 12 of the study when stored at 0-4°C. At h 0, meat dipped in 1% lactic acid + pediocin PA – 1 1280 AU/ml and stored at 10-15°C had bacterial counts of 6.53 log CFU/cm<sup>2</sup> which lower than the controll group (6.66 log CFU/cm<sup>2</sup>) ( $P<0.01$ ), but after h 3, the bacterial counts was constant until h 12 of the study. After dipping meat in sterized water and using lactic acid and pediocin PA – 1 (640 and 1280 AU/ml), the amount of bacterial counts were limited and constant until h 12 of the study even though they were stored at 30-35°C. However, the meat stored at high temperatures together with using lactic acid and pediocin PA – 1, lowered the pH value to ultimate pH at h 6 (5.56 and 5.47 respectively) and had the highest lightness of meat (L\*) (54.03) at h 12 of the study ( $P<0.05$ ).

The third experiment was to study the effect of bacteriocin and lactic acid on the reduction of microorganisms on different wholesale cuts of pork from unhygienic slaughterhouses. The experiment was conducted in 3x3 factorial arrangement in completely randomized design. Two factors as followed : Factor A was 3 cmbinations of lactic acid + pediocin PA – 1 (0%, 1% + 640 AU/ml and 1% + 1280 AU/ml) and Factor B was 3 different wholesale cuts (Boston Shoulder, Loin and Belly). The results showed that the bacterial counts were reduced significantly ( $P<0.01$ ) and pH value decreased significantly as the concentrations of pediocin PA – 1 increased in all cuts. The loin

dipped in lactic acid and pediocin PA – 1 at 1280 AU/ml had higher lightness (L\*) value (56.07) than the group using pediocin PA – 1 640 AU/ml (54.11) and the controlled group (52.07) (P<0.05).

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และ ผศ.อดิสร เสวตวิวัฒน์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา ทำให้งานวิทยานิพนธ์สำเร็จลงได้ ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย และโครงการย่อยบัณฑิตศึกษาและวิจัยคณะเทคโนโลยีการเกษตร ที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทางจุลินทรีย์ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ การอบรมในด้านการวิเคราะห์หาเชื้อจุลินทรีย์ และขอขอบคุณความมีน้ำใจ ของเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ นักศึกษาปริญญาโทที่คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ คุณยาย และพี่สาว ที่ให้การสนับสนุนและคอยเป็นกำลังใจในการศึกษาตลอดมา

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแต่ผู้มีพระคุณทุกท่าน ตลอดจนผู้ที่สามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไป

ชนัญญา กงทะสร

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	VI
สารบัญ.....	VIII
สารบัญตาราง.....	XI
สารบัญภาพ.....	XIV
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มา.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์.....	3
1.3 สถานที่ดำเนินการ.....	3
1.4 ขั้นตอนการศึกษา.....	3
1.5 ระยะเวลาการศึกษา.....	3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ความสำคัญของเชื้อจุลินทรีย์.....	4
2.1.1 จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค.....	4
2.1.2 จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย.....	5
2.2 แหล่งการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์.....	8
2.3 จุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์.....	8
2.3.1 ปัจจัยที่เป็นผลให้จุลินทรีย์เจริญได้ดีในเนื้อสัตว์.....	8
2.3.2 จุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์.....	12
2.3.3 ลักษณะของการเสื่อมสภาพของเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์.....	14
2.3.4 จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อสัตว์และการควบคุม.....	18
2.3.5 เชื้อจุลินทรีย์สำคัญที่พบปนเปื้อนในเนื้อสัตว์.....	19
2.3.6 การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการฆ่าสัตว์.....	21
2.4 การใช้สารละลายกรดแลคติกในการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์.....	27
2.4.1 คุณสมบัติของกรดแลคติก.....	27
2.4.2 กลไกการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ใช้กรดอินทรีย์.....	28

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4.3 การใช้สารละลายกรดแลคติกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์.....	28
2.5 การใช้แบคทีเรียโอซินในการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์.....	30
2.5.1 การจัดแบ่งประเภทของแบคทีเรียโอซิน.....	30
2.5.2 การใช้แบคทีเรียโอซินในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์.....	33
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	37
3.1 อุปกรณ์.....	37
3.1.1 เนื้อสุกทดลอง.....	37
3.1.2 เชื้อที่ใช้ในการทดลอง.....	37
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี.....	37
3.1.4 เครื่องมือ.....	38
3.2 วิธีการดำเนินงาน.....	38
3.2.1 ขั้นตอนการเตรียมแบคทีเรียโอซิน (pediocin PA – 1) ที่ได้จากเชื้อ <i>Pediococcus pentosaceus</i> TISTR 536.....	38
3.2.2 ขั้นตอนการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียโอซิน.....	39
3.3 วิธีการทดลอง.....	40
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	44
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	45
4.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินในการ ลดปริมาณเชื้อ <i>Salmonella</i> Derby <i>Salmonella</i> Anatum และ <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro</i> test).....	45
4.1.1 ผลของการใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินในการลดปริมาณเชื้อ <i>Salmonella</i> Derby ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro</i> test).....	45
4.1.2 ผลของการใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินในการลดปริมาณเชื้อ <i>Salmonella</i> Anatum ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro</i> test).....	48
4.1.3 ผลของการใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินในการลดปริมาณเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro</i> test).....	50

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมบนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิก่อนการเก็บต่างกัน.....	52
4.2.1 อิทธิพลของสารละลายกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินและอุณหภูมิในการเก็บต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	53
4.2.2 อิทธิพลของสารละลายกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินต่อค่า pH ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิก่อนการเก็บต่างกัน.....	56
4.2.3 อิทธิพลของสารละลายกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินต่อค่าสีของเนื้อสุกร (L*) จากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิก่อนการเก็บต่างกัน.....	59
4.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่มาจากชิ้นส่วนใหญ่ต่างกัน.....	62
4.3.1 อิทธิพลของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินต่อปริมาณจุลินทรีย์บนชิ้นส่วนใหญ่ต่างกัน.....	62
4.3.2 อิทธิพลของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินต่อค่า pH ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่มาจากชิ้นส่วนใหญ่ต่างกัน.....	64
4.3.3 อิทธิพลของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินต่อค่าสีของเนื้อสันนอกสุกร (L*) จากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่มาจากชิ้นส่วนใหญ่ต่างกัน.....	66
บทที่ 5 วิจัยณ์ผลการทดลอง.....	69
5.1 ผลของการใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินในการลดปริมาณเชื้อ <i>Salmonella</i> Derby <i>Salmonella</i> Anatum และ <i>Staphylococcus aureus</i> ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro</i> test).....	69
5.1.1. ผลของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>Salmonella</i> Derby ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro</i> test).....	69
5.1.2 ผลของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>Salmonella</i> Anatum ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro</i> test).....	70

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5.1.3 ผลของกรดแลคติกคร่วมกับแบคทีเรียโอสตินต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro</i> test).....	71
5.2 ผลของการใช้กรดแลคติกคร่วมกับแบคทีเรียโอสตินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน ค่า pH และค่าสีของเนื้อ (L*) ที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน.....	72
5.2.1 ผลของการใช้กรดแลคติกคร่วมกับแบคทีเรียโอสตินในการลดปริมาณเชื้อ จุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน...	72
5.2.2 ผลของการใช้กรดแลคติกคร่วมกับแบคทีเรียโอสตินต่อค่า pH ของเนื้อ สุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน.....	73
5.2.3 ผลของการใช้กรดแลคติกคร่วมกับแบคทีเรียโอสตินต่อค่าสีเนื้อสุกร (L*) จากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน.....	74
5.3 ผลของการใช้กรดแลคติกคร่วมกับแบคทีเรียโอสตินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน ค่า pH และค่าสีของเนื้อสุกร (L*) ที่มาจากชิ้นส่วนใหญ่ต่างกัน.....	75
บทที่ 6 สรุปและข้อเสนอแนะ.....	77
6.1 สรุป.....	77
6.2 ข้อเสนอแนะ.....	79
บรรณานุกรม.....	80
ภาคผนวก.....	87
ประวัติผู้เขียน.....	153

# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงมาตรฐานเชื้อจุลินทรีย์สำหรับเนื้อไก่ส่งออกจกประเทศไทย.....	7
2.2 แสดงมาตรฐานเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสุกรของประเทศเยอรมัน.....	7
2.3 แสดงจำนวนของแบคทีเรียที่ทำให้เห็นเป็นลักษณะเมือกเกิดขึ้นบนผิวหนังและการเกิด กลิ่นเหม็นในชั้นเนื้อและผลิตภัณฑ์.....	17
2.4 แสดงจำนวนตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนของเชื้อ <i>Salmonella spp.</i> <i>Listeria spp.</i> และ <i>Yersinia spp.</i> .....	23
2.5 แสดงค่าเปอร์เซ็นต์ที่พบเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคจากผิวหนังสุกรในระหว่าง กระบวนการฆ่า.....	25
2.6 แสดงปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์รวมในบรรยากาศและเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ ระหว่างขั้นตอนการรับสัตว์ การเอาเครื่องในออก การตัดแต่งและการถอดกระดูกออก การลดอุณหภูมิแบบใช้ลมเย็น และแบบใช้น้ำเย็นของโรงฆ่าสัตว์ปีก.....	27
4.1 อิทธิพลของกรดแลคติกและแบคทีเรียโอสินต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>Salmonella Derby</i> ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro test</i> ).....	45
4.2 อิทธิพลของกรดแลคติกและแบคทีเรียโอสินต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>Salmonella Anatum</i> ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro test</i> ).....	48
4.3 อิทธิพลของกรดแลคติกและแบคทีเรียโอสินต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro test</i> ).....	50
4.4 แสดงอิทธิพลร่วมของระดับของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสินและอุณหภูมิต่อการลด ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมบนผิวหนังสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	54
4.5 อิทธิพลร่วมของระดับของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสินและอุณหภูมิต่อค่า pH ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	57
4.6 อิทธิพลร่วมของระดับของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสินและอุณหภูมิต่อค่าสีของเนื้อ สุกร (L*) จากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	60
4.7 แสดงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนชิ้นเนื้อต่างๆ ก่อนการจุ่มสารละลาย.....	62
4.8 แสดงอิทธิพลร่วมของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสินและเนื้อชิ้นส่วนต่างๆ ต่อปริมาณ จุลินทรีย์บนผิวหนังสุกร.....	64

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.9 แสดงอิทธิพลร่วมระหว่างกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียไอซิดินและเนื้อที่มาจากชิ้นส่วนต่างๆ ต่อค่า pH ของเนื้อ.....	66
4.10 แสดงอิทธิพลร่วมระหว่างกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียไอซิดินและเนื้อที่มาจากชิ้นส่วนต่างๆ ต่อค่าความสว่างของสีเนื้อ (L*) ของเนื้อสันนอกสุกรที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	68
7.1 แสดงค่าการวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียไอซิดินในการลดปริมาณเชื้อ <i>Salmonella</i> Derby ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro</i> test) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 – 30 ของการศึกษา.....	88
7.2 แสดงค่า Least Squares Means และการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกและระดับความเข้มข้นของสารละลายแบคทีเรียไอซิดินต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>Salmonella</i> Derby ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro</i> test).....	89
7.3 แสดงค่าการวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียไอซิดินในการลดปริมาณเชื้อ <i>Salmonella</i> Anatum ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro</i> test) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 – 30 ของการศึกษา.....	99
7.4 แสดงค่า Least Squares Means และการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกและระดับความเข้มข้นของสารละลายแบคทีเรียไอซิดินต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>Salmonella</i> Anatum ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro</i> test).....	100
7.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียไอซิดินในการลดปริมาณเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro</i> test) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 – 30 ของการศึกษา.....	110
7.6 แสดงค่า Least Squares Means และการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกและระดับความเข้มข้นของสารละลายแบคทีเรียไอซิดินต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro</i> test).....	111
7.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียไอซิดินและอุณหภูมิการเก็บต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	121
7.8 แสดงค่า Least Squares Means และการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียไอซิดินและอุณหภูมิการเก็บต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	122
7.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียไอซิดินและอุณหภูมิ	

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
การเก็บต่อค่า pH เนื้อสุกรที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	130
7.10 แสดงค่า Least Squares Means และการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินและอุณหภูมิการเก็บต่อค่า pH ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	131
7.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินและอุณหภูมิการเก็บต่อค่าสีของเนื้อสุกร ( $L^*$ ) ที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	139
7.12 แสดงค่า Least Squares Means และการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินและอุณหภูมิการเก็บต่อค่าสีของเนื้อสุกร ( $L^*$ ) จากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	140
7.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินและชิ้นส่วนเนื้อที่ต่างกันต่อค่าการลดปริมาณจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรที่มาจาก โรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	148
7.14 แสดงค่า Least Squares Means และการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินและชิ้นส่วนเนื้อที่ต่างกันการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	149
7.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินและชิ้นส่วนเนื้อที่ต่างกันต่อค่า pH ของเนื้อสุกรที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	150
7.16 แสดงค่า Least Squares Means และการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินและชิ้นส่วนเนื้อที่ต่างกันต่อค่า pH ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	151
7.17 แสดงค่า Analysis of variene และการเปรียบเทียบอิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินและชิ้นส่วนเนื้อที่ต่างกันต่อค่าสีของเนื้อสุกร ( $L^*$ ) จากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	152

# สารบัญญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 แสดงแหล่งการปนเปื้อน และจุดอันตรายต่อการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในกระบวนการผลิตเนื้อสัตว์จากโรงฆ่าสุกร เกะ และโค.....	9
2.2 แสดงแหล่งการปนเปื้อนและจุดอันตรายต่อการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในการเลี้ยงสัตว์ปีก.....	10
2.3 แสดงกระบวนการผลิตไก่สด.....	11
2.4 แสดงการเน่าเสียของไส้กรอกเวียนนา ซึ่งมีระดับการปนเปื้อนของแบคทีเรียแตกต่างกันที่อุณหภูมิของการเก็บรักษาและเวลาต่างกัน.....	16
4.1 อิทธิพลของกรดแลคติกและแบคทีเรียโอสลินต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>Salmonella</i> Derby ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro</i> test).....	46
4.2 อิทธิพลของกรดแลคติกและแบคทีเรียโอสลินต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>Salmonella</i> Anatum ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro</i> test).....	49
4.3 อิทธิพลของกรดแลคติกและแบคทีเรียโอสลินต่อการลดปริมาณเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> ในหลอดทดลอง ( <i>in vitro</i> test).....	51
4.4 อิทธิพลของระดับของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสลินและอุณหภูมิการเก็บต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	55
4.5 อิทธิพลร่วมของระดับของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสลินและอุณหภูมิการเก็บต่อค่า pH ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	58
4.6 อิทธิพลร่วมของระดับของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสลินต่อค่าสีของเนื้อ (L*) สุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	61
4.7 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนชิ้นเนื้อส่วนต่างๆ ก่อนการจุ่มสารละลาย.....	63
4.8 อิทธิพลร่วมของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสลินและชิ้นส่วนเนื้อต่างๆ.....	65
4.9 อิทธิพลร่วมระหว่างกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสลินและชิ้นส่วนต่างกันต่อค่า pH ของเนื้อ.....	67
4.10 อิทธิพลของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสลินต่อค่าสีของเนื้อสุกร (L*) จากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน.....	68

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มา

โดยทั่วไปแล้ว ผู้บริโภคจะเป็นผู้กำหนดคุณภาพและความเหมาะสมในการนำเนื้อสัตว์ไปใช้ประโยชน์ ซึ่งข้อกำหนดของผู้บริโภคแต่ละคนก็แตกต่างกันออกไป แต่สิ่งหนึ่งที่ผู้บริโภคส่วนใหญ่ให้ความสนใจก็คือ ความปลอดภัยทางด้านอาหาร ทั้งปลอดภัยจากสารตกค้าง ยาปฏิชีวนะและสารเคมีในเนื้อสัตว์ แต่ปัจจัยอีกอันหนึ่งที่มีความสำคัญไม่น้อยไปกว่ากันคือ ความปลอดภัยจากการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งปีนี้เป็นปีแห่งความปลอดภัยทางด้านอาหาร (Food safety)

ปัญหาด้านการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคหลายชนิด เช่น เชื้อ *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. และ *E. coli* โดยเฉพาะเชื้อ *Salmonella* นั้นจัดเป็นเชื้อโรคสำคัญ ที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร (Gast et al. 1988) อีกทั้งการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ยังเป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่ทำให้การส่งออกเนื้อสัตว์บางชนิดของไทยไปยังต่างประเทศถูกกีดกัน ซึ่งการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์นั้น มีสาเหตุมาจากปัจจัยหลายประการ แต่สาเหตุหลักที่สำคัญอันหนึ่งก็คือ การปนเปื้อนในระหว่างกระบวนการฆ่า หรือการปนเปื้อนที่มาจากโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่ได้มาตรฐาน มีกระบวนการฆ่า การตัดแต่งซากและการขนส่งซาก และเนื้อสัตว์ที่ไม่ถูกสุขลักษณะ ซึ่งเนื้อสัตว์ที่ได้จากโรงฆ่าประเภทนี้จะพบว่ามีปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์อยู่สูงมาก เป็นเหตุให้เนื้อสัตว์เหล่านี้เน่าเสียเร็ว ซึ่งเนื้อสัตว์ที่บริโภคกันเป็นส่วนใหญ่จะได้มาจากโรงฆ่าสัตว์ประเภทนี้ อีกทั้งแหล่งที่ซื้อเนื้อสัตว์ส่วนใหญ่ก็จะมาจากตลาดสดที่ไม่มีการเก็บรักษาเนื้อสัตว์อย่างถูกสุขลักษณะ ไม่มีห้องเย็นในการเก็บรักษาเนื้อ อีกทั้งประเทศไทยยังมีสภาพอากาศร้อนชื้น จึงทำให้มีสภาวะที่เหมาะสมอย่างยิ่งในการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ จากเหตุผลที่กล่าวมานี้จึงควรจะได้มีการปรับปรุงในเรื่องของการควบคุมมาตรฐานในการขนส่งและเก็บรักษาเนื้อสัตว์ โดยควรที่จะเพิ่มปริมาณของโรงฆ่าสัตว์ที่ได้มาตรฐานให้มีมากขึ้น รถที่ใช้ในการขนส่งซากและเนื้อสัตว์ก็ควรเป็นรถห้องเย็นที่มีระบบการควบคุมอุณหภูมิอย่างมีประสิทธิภาพ มีห้องเย็น ห้องแช่แข็งสำหรับเก็บรักษาเนื้อสัตว์ที่รอการจำหน่าย อีกทั้งสถานที่จำหน่ายเนื้อสัตว์ก็ควรจะมีลักษณะเป็นตู้ปิดมิดชิด ป้องกันแมลงและฝุ่นละออง มีการควบคุมอุณหภูมิอย่างเหมาะสม ซึ่งการที่จะปรับปรุงระบบการฆ่าและการจำหน่ายเนื้อสัตว์ให้ได้มาตรฐานตามที่กล่าวมานั้นเป็นเรื่องที่ต้องใช้เวลา เงินลงทุนและความร่วมมือจากหลายฝ่ายทั้งจากภาครัฐและเอกชน ดังนั้น จึงได้มีการพยายามนำเอาวิธีการต่างๆมาใช้ในการช่วยลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน

ในเนื้อสัตว์ เช่น การใช้สารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ทั้งที่ได้จากธรรมชาติ และที่ได้จากการสังเคราะห์ โดยสารดังกล่าวนั้นต้องไม่เป็นอันตรายกับผู้บริโภคและไม่มีผลตกค้าง ในเนื้อสัตว์ เช่น การใช้สารละลายกรดแลคติกหรือสารละลายคลอรีน ในการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับเนื้อสัตว์ โดยกรดแลคติกเป็นกรดอินทรีย์ที่เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี และมีกลิ่นรสที่นุ่มนวลกว่า กรดอินทรีย์ชนิดอื่น ทำให้ไม่บดบังกลิ่นและรสตามธรรมชาติของเนื้อสัตว์ คณะกรรมการอาหารและยา (FDA) ของสหรัฐอเมริกาได้จัดให้กรดแลคติกเป็นสารปรุงแต่งอาหารที่ยอมรับกันทั่วไปว่ามีความปลอดภัยในการใช้ ส่วนคลอรีนที่จัดเป็นสารเคมีนั้นสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้ เพราะมีการจัดให้คลอรีนเป็นสารประกอบที่เรียกว่า GRAS (Generally Recognized As Safe) จึงมีความปลอดภัยที่จะใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เมื่อใช้ในระดับความเข้มข้นที่กำหนด แต่นอกเหนือจากการใช้สารละลายเคมี และสารละลายอินทรีย์ในการลดปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์แล้ว ยังมีอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ซึ่งก็คือการใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์บางชนิด เช่นการนำสารสกัดจากแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกบางชนิดที่เรียกว่า แบคเทอริโอซิน (Bacteriocin) มาใช้ เนื่องจากว่าสารสกัดตัวนี้เป็นโปรตีนที่ได้มาจากการสกัดเชื้อแบคทีเรีย จึงมีคุณสมบัติที่สามารถย่อยสลายตามธรรมชาติ ไม่ก่อให้เกิดผลตกค้างในเนื้อสัตว์ และคุณสมบัติที่ดีของแบคเทอริโอซินอีกอันหนึ่งก็คือ สามารถช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ในเนื้อที่เป็นสาเหตุของโรคหลายชนิด อย่างเช่นโรคอาหารเป็นพิษ (Food poisoning) โดยแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเหล่านี้ได้แก่ *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* O157:H7 และชนิด EHEC, *C. shigella*, *Listeria*, *Yersinia*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Clostridium*, ปรสิตรของ *Cryptosporidium* และ *Toxoplasma* และยังมีไวรัสบางชนิด เช่น Hepatitis, Norwalk และ Norwalk – like. (Anonymous. 2001)

ดังนั้น การศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงเป็นการนำเอาสารละลายกรดแลคติก และสารสกัดแบคเทอริโอซินมาใช้ร่วมกัน ในการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ชิ้นส่วนต่างกันและที่อุณหภูมิ และระยะเวลาต่าง ๆ กัน เพื่อให้การศึกษาดังอยู่บนพื้นฐานความเป็นจริงของสภาพการณ์ที่เป็นอยู่ มีความเหมาะสม และมีความเป็นไปได้ในสภาพเศรษฐกิจ และสังคมในปัจจุบัน เพื่อให้สามารถนำไปใช้ได้จริงในทางปฏิบัติ

## 1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

- 1) เพื่อทราบถึงประสิทธิภาพ และระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดแลคติก แบคทีเรียโอซิน และการใช้สารร่วมกันในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby, *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)
- 2) เพื่อทราบถึงผลของการใช้สารสกัดแบคทีเรียโอซินร่วมกับกรดแลคติกในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมบนผิวหนังเนื้อสุกรที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์ที่ไม่ได้มาตรฐานที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน
- 3) เพื่อทราบถึงผลของการใช้สารสกัดแบคทีเรียโอซินร่วมกับกรดแลคติกในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมบนเนื้อสุกรที่มาจากชิ้นส่วนใหญ่ (Wholesale cuts) ที่ต่างกัน

## 1.3 สถานที่ดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

## 1.4 ขั้นตอนการศึกษา

- 1) การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการใช้แบคทีเรียโอซินร่วมกับกรดแลคติกในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)
- 2) การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการใช้แบคทีเรียโอซินร่วมกับกรดแลคติกในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวหนังเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน
- 3) การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการใช้แบคทีเรียโอซินร่วมกับกรดแลคติกในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวหนังเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่มาจากชิ้นส่วนใหญ่ต่างกัน

## 1.5 ระยะเวลาการศึกษา

ระยะเวลาในการศึกษาทั้งสิ้น 7 เดือน เริ่มทำการศึกษาดังแต่ เดือนตุลาคม 2546 เสร็จสิ้นการศึกษา เดือนเมษายน 2547

## บทที่ 2

### งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ความสำคัญของเชื้อจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์มีความสำคัญ คือ ทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคที่บริโภคเนื้อสัตว์ที่มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ และเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เนื้อสัตว์เน่าเสีย ทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ นอกจากนี้ยังใช้เป็นตัวบ่งชี้สภาวะต่าง ๆ ของเนื้อสัตว์ (Indicator organism) ได้ จุลินทรีย์สามารถแบ่งออกได้เป็นประเภทต่าง ๆ ดังนี้ (สุวณีย์ สุภเวชน. 2536)

##### 2.1.1 จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (Pathogenic microorganism)

สามารถแบ่งจุลินทรีย์ประเภทนี้ตามผลกระทบที่เกิดขึ้นได้เป็น 2 ประเภท คือ

##### 2.1.1.1 โรคที่เกิดจากการติดเชื้อจุลินทรีย์ (Foodborne disease)

ที่พบโดยทั่วไป คือ โรคกระเพาะและลำไส้อักเสบ (Gastroenteritis) โรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *Salmonella* (Salmonellosis) ซึ่งโรคที่เกิดจากการติดเชื้อจุลินทรีย์นี้ ส่วนมากมักจะเกิดจากการติดเชื้อ *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* และ *Campylobacter* spp. ซึ่งสามารถพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้บนเนื้อสัตว์ อวัยวะภายใน และมูลของสัตว์ อาการของโรคจะแสดงออกเมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนเชื้อดังกล่าว เชื้อเหล่านี้ก็จะเข้าไปเจริญเติบโตในทางเดินอาหาร ทำให้เกิดอาการท้องเสีย และนอกจากนี้ยังอาจมีอาการอื่น ๆ ตามมา เช่น คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง

##### 2.1.1.2 โรคที่เกิดจากสารพิษที่เชื้อจุลินทรีย์สร้างขึ้น (Food poisoning)

เกิดจากสารพิษของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ ที่สามารถพบได้ทั่วไปคือโรคที่เกิดจากสารพิษของเชื้อ *Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* Poisoning) มีอาการเช่นเดียวกับโรคกระเพาะและลำไส้อักเสบ โดยเชื้อ *Staphylococcus aureus* สามารถถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 66 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 นาที ส่วนสารพิษที่เกิดจากเชื้อนี้สามารถทำลายได้ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว อุณหภูมิที่ปรุงอาหารไม่สามารถทำลายสารพิษของเชื้อนี้ได้ โรค Salmonellosis มีอาการคลื่นไส้ อาเจียนและท้องร่วง ซึ่งเชื้อ *Salmonella* spp. มักพบว่าจะปนเปื้อนบนเนื้อสัตว์ และอวัยวะในระบบทางเดินอาหาร โรค *Clostridium perfringens* Food Poisoning เชื้อ *Clostridium perfringens* สามารถถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส โรค Botulism ซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากสารพิษของเชื้อ

*Clostridium botulinum* ในลำไส้ โดยเชื้อนี้สามารถปนเปื้อนมากับน้ำและดิน ซึ่งสามารถทำลายได้ที่อุณหภูมิ 83 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยโรคที่เกิดจากสารพิษของเชื้อจุลินทรีย์นั้น จะมีอาการรุนแรงมากกว่าโรคที่เกิดจากการติดเชื้อจุลินทรีย์

### 2.1.2 จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย (Spoilage microorganism)

บางครั้งเราจะพบว่าเนื้อที่แช่อยู่ในตู้เย็น (0-10 องศาเซลเซียส) สามารถเกิดการเน่าเสียได้ ซึ่งสาเหตุสำคัญของการเน่าเสียนั้น เกิดจากแบคทีเรียบางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ดีในที่มีอุณหภูมิต่ำ เช่น *Pseudomonas* spp. *Moraxellas* spp. และ *Altermonas* spp.

เมื่อนำเนื้อสดไปบรรจุในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ พบว่าจุลินทรีย์บางชนิดสามารถเจริญได้ เช่น แบคทีเรียในกลุ่มที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ (Lactic acid bacteria) ซึ่งสามารถเจริญร่วมกับ *Brocotrix thermophacta*, *Aeromonas* spp., *Altermonas* spp. และ *Psychrotrophic enterobacteriaceae* ได้ โดยที่ความสามารถในการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียกลุ่มนี้บนเนื้อสัตว์ที่บรรจุในระบบสุญญากาศ จะขึ้นอยู่กับค่า pH ของเนื้อ สำหรับผลิตภัณฑ์ดองเกลือ (Cooked cured meats) สามารถเกิดการเน่าเสียได้เช่นกัน โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียได้แก่ *Brocotrix thermophacta* Micrococci ยีสต์ และรา เป็นต้น (Pearson and Dutson. 1986)

ความสำคัญของจุลินทรีย์อีกประการหนึ่ง คือ เป็นตัวบ่งชี้ปริมาณจุลินทรีย์ ซึ่งใช้การตรวจหาจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น Aerobic mesophiles, Enterobacteriaceae, Coliforms และปริมาณจุลินทรีย์รวม (Total counts) ในการประเมินเชื้อจุลินทรีย์บนซากที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์โดยตรวจหาจำนวนของจุลินทรีย์บนผิวซากของสัตว์ สามารถที่จะบ่งบอกถึงความเอาใจใส่ทางด้านสุขลักษณะในระหว่างกระบวนการฆ่าและตัดแต่งเนื้อสัตว์ได้ โดยศศิธร คณะรัตน์ และกาญจณี ธรรมมาพิพัฒนกุล (2534) ได้กล่าวถึงการพิจารณาสภาพทางจุลชีววิทยาของจุลินทรีย์ที่ตรวจพบและอันตรายที่จะเกิดกับผู้บริโภค ดังนี้

#### 2.1.3.1 Aerobic mesophilic plate counts

จะใช้เป็นตัวพิจารณาถึงสภาพทางจุลชีววิทยาของเนื้อสัตว์และอาหารอื่น

- 1) เป็นตัวบ่งชี้ให้เห็นว่าจะทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพ
- 2) เป็นตัวบ่งชี้ให้เห็นว่ากระบวนการผลิตไม่ถูกสุขลักษณะและขาดการสุขาภิบาลที่ดี
- 3) เป็นตัวบ่งชี้ให้เห็นถึงการเริ่มเน่าเสีย ซึ่งพบว่าในเนื้อสัตว์มีจำนวนแบคทีเรีย 10 – 100 ล้านตัวต่อตารางเซนติเมตรหรือต่อกรัม จะเป็นเนื้อที่มีกลิ่นเน่าเหม็น
- 4) เป็นตัวบ่งชี้ให้เห็นว่าการขนส่งไม่ถูกต้อง

### 2.1.3.2 Coliform bacteria

ถ้าพบเชื้อนี้ในปริมาณที่สูงในเนื้อสัตว์ หรือจากผลิตภัณฑ์สัตว์ที่ยังไม่ผ่านความร้อน จะแสดงให้เห็นถึงสุขลักษณะที่ไม่ดี แต่ถ้ายังตรวจพบในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่ผ่านความร้อนแล้ว แสดงว่าความร้อนที่ใช้แล้วยังสูงไม่เพียงพอ หรือเกิดการปนเปื้อนภายหลังขั้นตอนการให้ความร้อนแล้ว แสดงให้เห็นว่าความร้อนที่ใช้สูงไม่เพียงพอ หรือเกิดการปนเปื้อนหลังจากผ่านขั้นตอนการให้ความร้อนแล้ว เนื่องจากว่าแบคทีเรียในกลุ่มนี้ถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน และความเย็น

1) *Escherichia coli* ถ้าตรวจพบในเนื้อสัตว์ หรือผลิตภัณฑ์จากสัตว์ แสดงว่ามี การปนเปื้อนจากมูลสัตว์ ซึ่งเชื้อนี้เป็นแบคทีเรียที่ง่ายต่อการถูกทำลายโดยการเพิ่มและลด อุณหภูมิและการลดความชื้น

2) *Faecal Streptococci* เป็นแบคทีเรียที่ทนต่อการทำลายด้วยการเพิ่มหรือลด อุณหภูมิ และการลดความชื้นได้ดี จึงมักใช้เป็นตัวบ่งชี้แบคทีเรียสำหรับเนื้อสัตว์ที่แช่แข็ง ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่ผ่านการเพิ่มอุณหภูมิ และการลดความชื้น

3) *Staphylococcus* spp. ถ้าพบในเนื้อสัตว์ อาจบ่งชี้ว่าเกิดการปนเปื้อนจาก ผิวหนัง ปาก หรือจมูกของผู้ปฏิบัติงาน หรืออาจมาจากตัวสัตว์เองก็ได้ ถ้าพบเป็นจำนวนมาก อาจ ใช้เป็นข้อบ่งชี้ว่า อาจมีชนิดที่สร้างสารพิษเอนเทอโรทอกซิน (Enterotoxin) ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ

Pearson และ Dutson (1986) กล่าวว่า การตรวจพบจุลินทรีย์ mesophiles บนซากสัตว์จะเป็นตัวบ่งชี้ให้เห็นถึงสุขศาสตร์ของโรงฆ่าและขบวนการตัดแต่ง การเจริญของจุลินทรีย์พวก mesophiles บนเนื้อสัตว์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันออกไป เนื่องจากความแตกต่างของ กระบวนการฆ่าและตัดแต่ง เช่น ในกระบวนการฆ่าสุกรและไก่ จะไม่มีการเอาหนังออก ดังนั้น จำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนที่บริเวณผิวหนัง จะถูกทำลายไปในระหว่างกระบวนการลอกซากและเผาขน แต่ก็พบการปนเปื้อนได้อีกภายหลังจากกระบวนการดังกล่าว ส่วนในซากโคและซากแกะ จุลินทรีย์พวก mesophiles จะปนเปื้อนบนผิวซากภายหลังกระบวนการเอาหนังและเครื่องในออก จำนวนของ mesophiles จะแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในระหว่างกระบวนการผลิต นอกจากนี้ การปนเปื้อนของแบคทีเรียพวก Psychrotrophic bacteria (เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ 25 – 40 องศาเซลเซียส) บนซากแกะและโคยังเป็นตัวบ่งชี้ถึงสุขศาสตร์ของโรงฆ่าและกระบวนการตัดแต่งอีกด้วย จำนวนของ Enterobacteria, coliforms, faecal coliforms และ *E. coli* จะเป็นตัวบ่งชี้ให้เห็นถึงการปนเปื้อนของซากที่เกิดจากระบบทางเดินอาหารของสัตว์

เนื่องจากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียบนเนื้อสัตว์มีอันตรายต่อผู้บริโภค ประเทศผู้นำเข้าเนื้อสัตว์จึงได้วางมาตรการในการกำหนดมาตรฐานการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในเนื้อสัตว์ เพื่อคุ้มครองผู้บริโภคในแต่ละประเทศ โดยระบุไว้ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงมาตรฐานเชื้อจุลินทรีย์สำหรับเนื้อไก่ส่งออกจกประเทศไทย

ชนิดของจุลินทรีย์	จำนวนจุลินทรีย์ต่อเนื้อไก่ 1 กรัม (cfu/g)
Total bacterial counts	$< 5 \times 10^5$
Faecal <i>Streptococci</i>	$< 10^3$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$< 100$
<i>Salmonella</i> spp. (ไก่ 25 กรัม)	0

ที่มา : ศศิธร คณะรัตน์ และ กาญจณี ธรรมาพิพัฒน์กุล (2534)

นอกจากนี้ เพ็ญศรี รอดมาและอุรารัตน์ วุฒิกพันธ์ (2536) ได้รายงานมาตรฐานทางด้านจุลินทรีย์ในการนำเข้าไก่สดแช่แข็งจากประเทศไทย โดยประเทศสวีเดนและญี่ปุ่นได้กำหนดไว้ว่าจะต้องไม่พบเชื้อ *Campylobacter jejuni / coli* ในไก่สดแช่แข็ง และในประเทศเยอรมันยังได้กำหนดมาตรฐานของเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนบนเนื้อสุกรไว้ ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงมาตรฐานเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสุกรของประเทศเยอรมัน

ชนิดของจุลินทรีย์	จำนวนจุลินทรีย์ต่อตารางเซนติเมตร
Total aerobic count	$< 10^4$
<i>Salmonella</i> spp.	0
<i>Campylobacter</i> spp.	0
<i>Yersinia</i> spp.	0
<i>Listeria</i> spp.	0

ที่มา : Thoeger (1993)

และจากรายงานการสำรวจการศึกษการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่และหมูในปี พ.ศ. 2540 พบว่าเชื้อ *Salmonella* สายพันธุ์ที่พบมากที่สุดคือ *Salmonella* Anatum, *Salmonella* Panama, *Salmonella* Derby และ *Salmonella* Java ตามลำดับ (สุมาลี บุญมา และนพรัตน์ หนานริม. 2540)

## 2.2 แหล่งการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์

การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ สามารถเกิดขึ้นได้ในทุกขั้นตอนในกระบวนการผลิต ซึ่งการปนเปื้อนจะมากหรือน้อยนั้นขึ้นอยู่กับ การควบคุมสุขลักษณะ และการจัดการที่ดี การควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สามารถทำได้โดยการกำหนดจุด หรือขั้นตอนที่อาจทำให้เกิดการปนเปื้อน จากนั้นก็ทำการควบคุม หาวิธีป้องกันขั้นตอนนั้นๆ โดยแหล่งของการปนเปื้อนที่สำคัญและขั้นตอนที่อาจพบการปนเปื้อนแสดงไว้ในภาพที่ 2.1 2.2 และ 2.3

## 2.3 จุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์

กล้ามเนื้อของสัตว์โดยทั่วไปแล้วจะปราศจากจุลินทรีย์ แต่เมื่อสัตว์ถูกฆ่าเพื่อนำเนื้อมาใช้เป็นอาหารโดยผ่านขั้นตอนการฆ่าและชำแหละ เช่น การใช้มีดเชือดคอ การถลกหนัง การใช้ใบเลื่อยแบ่งครึ่งซาก การใช้น้ำล้างเลือด การเคลื่อนย้ายซาก และการตัดแต่งชิ้นเนื้อ ทำให้เนื้อมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย (เยาวลักษณะ สूरพันธุ์พิศิษฐ์. 2536)

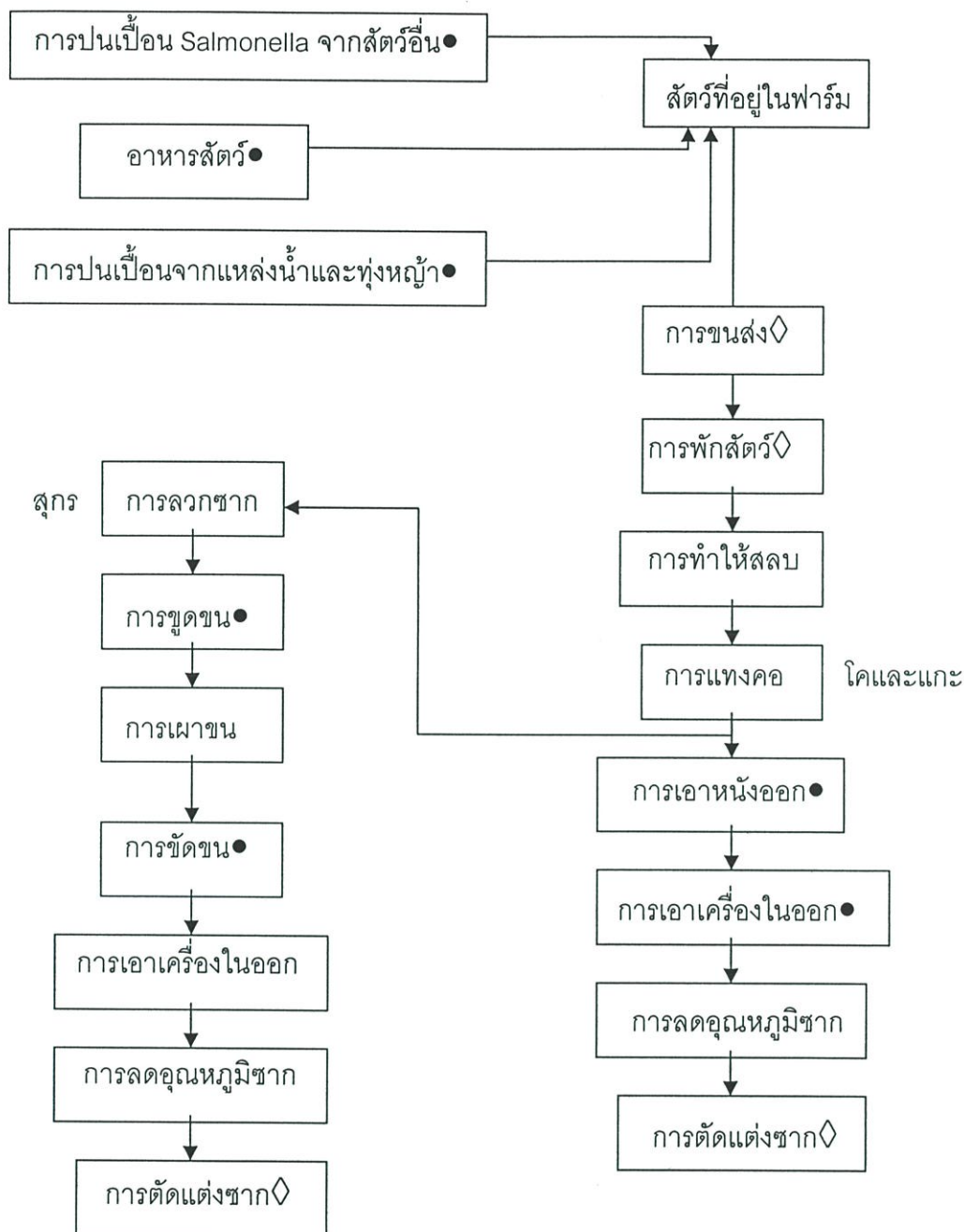
### 2.3.1 ปัจจัยที่เป็นผลให้จุลินทรีย์เจริญได้ดีในเนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์จัดได้ว่าเป็นอาหารที่ดีที่สุดต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งนี้เนื่องมาจากสาเหตุดังต่อไปนี้

#### 1) เนื้อสัตว์มีความชื้นสูง

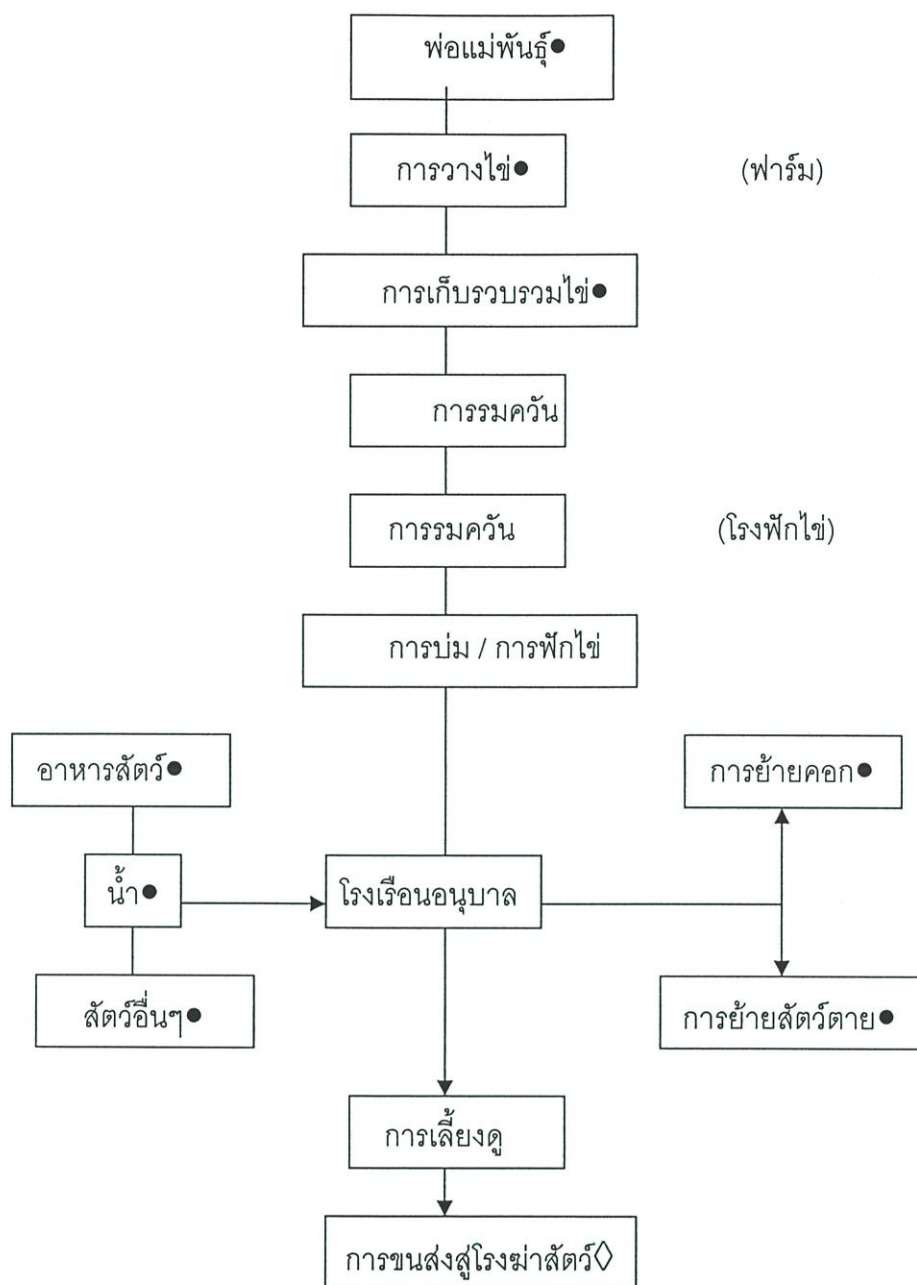
ความชื้น (Moisture) ของเนื้อโดยทั่วไปมีประมาณร้อยละ 50 - 57 หรือ Aw ประมาณ 0.99 ขึ้นไป ซึ่งเป็นความชื้นที่จุลินทรีย์ทุกชนิดสามารถเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี ทั้งนี้เพราะแบคทีเรียสามารถเจริญได้ดีในที่ที่มีความชื้นประมาณร้อยละ 18 หรือมากกว่า หรือที่ Aw ประมาณ 0.75 ขึ้นไป

2) เนื้อสัตว์เป็นแหล่งอาหารที่ให้ธาตุอาหารพวกไนโตรเจน แร่ธาตุ และวิตามินที่อุดมสมบูรณ์ จึงเหมาะแก่การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์



- แหล่งการปนเปื้อนที่สำคัญ
- ◇ แหล่งการปนเปื้อนที่อาจพบ

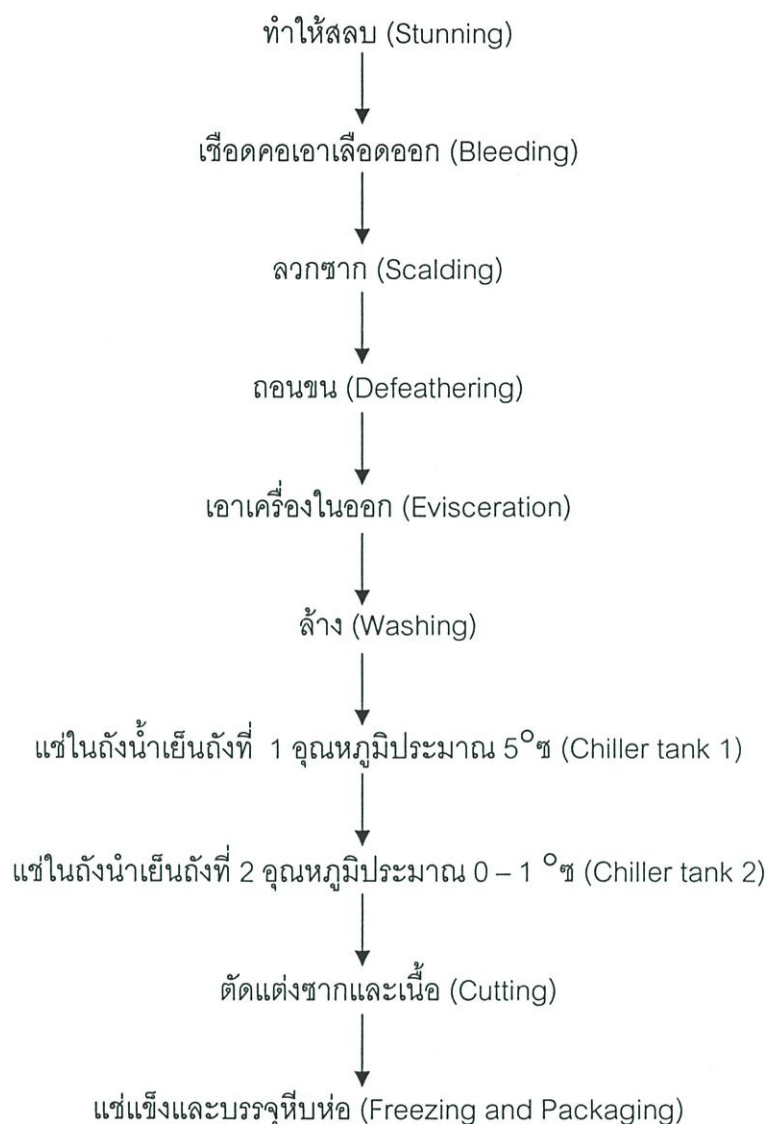
ภาพที่ 2.1 แสดงแหล่งการปนเปื้อน และจุดอันตรายต่อการปนเปื้อนของเนื้อสัตว์ที่เรียในกระบวนการผลิตเนื้อสัตว์จากโรงฆ่าสุกร แกะ และโค (WHO. 1988)



● แหล่งการปนเปื้อนที่สำคัญ

◇ แหล่งการปนเปื้อนที่อาจพบ

ภาพที่ 2.2 แสดงแหล่งการปนเปื้อนและจุดอันตรายต่อการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในการเลี้ยงสัตว์ปีก (WHO. 1988)



ภาพที่ 2.3 แสดงกระบวนการผลิตไก่สด (Pearson and Dutson. 1986)

3) เนื้อสัตว์มีสารอาหารพวกคาร์โบไฮเดรตที่จุลินทรีย์สามารถใช้ได้ (Fermentable carbohydrate) เช่น กลูโคสในน้ำเลือดที่เหลือค้างอยู่ตามเซลล์ต่างๆ ทำให้จุลินทรีย์ที่มีอยู่สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และเกิดการหมักได้ง่ายถ้าสภาพแวดล้อมเหมาะสม

4) เนื้อสัตว์มีค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (pH = 5.6)

5) คุณสมบัติทางฟิสิกส์ (Physical properties) ของเนื้อสัตว์

ลักษณะโดยทั่วไปของเนื้อมีช่องว่าง หรือโพรงอากาศมากมายที่ทำให้จุลินทรีย์สามารถอาศัยอยู่ได้ และการแปรสภาพต่างๆ ขณะนำไปแปรรูปหรือประกอบอาหาร ทำให้เป็นการ

เพิ่มพื้นที่ผิวของเนื้อที่จุลินทรีย์จะปนเปื้อนได้มากขึ้น เช่น การตัดเนื้อให้มีขนาดเล็กลง หรือการบด สับให้ละเอียด สิ่งเหล่านี้เป็นสาเหตุให้จุลินทรีย์สามารถปนเปื้อนในเนื้อได้มากขึ้น ประกอบกับการ มีอาหารและปัจจัยในการเจริญเติบโตอย่างครบถ้วน เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม จุลินทรีย์จะ เจริญเติบโตเพิ่มจำนวนมากขึ้นและเป็นสาเหตุให้เนื้อเน่าเสียภายในเวลาอันรวดเร็ว

### 2.3.2 จุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์

เยาวลักษณะ สุรพันธ์พิศิษฐ์. (2536) รายงานว่าในเนื้อสัตว์มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่หลาย ชนิด ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรีย ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภท คือ

#### 2.3.2.1 แบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ (Lactic acid bacteria)

แบคทีเรียพวกนี้อยู่ตามผิวหนังของเนื้อต้องการอากาศในการเจริญเติบโต (Facultative anaerobic bacteria) สามารถใช้น้ำตาลได้โดยการออกซิโดซ์ ทำให้ได้ก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ แต่ถ้ามีปริมาณออกซิเจนจำกัด หรือถ้าการออกซิโดซ์ของน้ำตาลไม่ สมบูรณ์ จะทำให้เกิดกรดอินทรีย์ขึ้น แบคทีเรียเหล่านี้มีบทบาทสำคัญต่อผลิตภัณฑ์เนื้อจำพวกที่ ผ่านการหมัก (Fermentation products) ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 4 ชนิด คือ

1) Homofermentative lactic acid bacteria ได้แก่ แบคทีเรียพวก Streptococci และ Lactobacilli บางชนิด แบคทีเรียพวกนี้ในการหมักจะให้กรดแลคติกเพียงอย่าง เดียว

2) Heterofermentative lactic acid bacteria ได้แก่ แบคทีเรียพวก Leuconostoc และ Lactobacilli บางชนิด แบคทีเรียพวกนี้ในการหมักจะให้กรดแลคติก เอทิลแอลกอฮอล์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

3) Bacillus species แบคทีเรียพวกนี้จะพบเฉพาะในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่ เติมสารไนเตรท (Nitrate) เท่านั้น ซึ่งแบคทีเรียพวกนี้จะทำให้เกิดกรดแลคติก กรดอะซิติก และก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์

4) Clostridium species แบคทีเรียพวกนี้ในการหมักจะทำให้เกิดกรดแลคติก กรดบิวทีริก อะซิโตน บิวทิวแอลกอฮอล์ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจน

#### 2.3.2.2 แบคทีเรียที่สร้างสารพิษขึ้นในอาหารพวกเนื้อสัตว์ (Food borne intoxication)

แบคทีเรียพวกนี้จะปนเปื้อนอยู่ในเนื้อ หรืออาจปะปนอยู่ในฝุ่นดิน หรือมาจาก ผู้ประกอบการผลิตอาหาร สามารถทนความร้อนได้สูง และจะเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้น พร้อมกับผลิตสารพิษ แบคทีเรียประเภทนี้มีอยู่ 3 ชนิด

1) *Clostridium botulinum* เป็นแบคทีเรียที่ผลิตสารพิษที่มีชื่อว่า Botulism สารพิษนี้จะถูกสร้างขึ้นและขับออกจากภายในเซลล์มาสู่อาหาร เป็นพวก exotoxin ที่จะถูกทำลาย

ได้เมื่อนำไปต้มในน้ำเดือด (อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส) นาน 15 – 20 นาที ความเป็นพิษของ botulism นั้นจะพบว่าภายหลังจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษนี้อยู่ประมาณ 24 – 48 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะมีอาการกล้ามเนื้ออ่อนเพลีย ไม่มีแรง สูญเสียความสามารถในการสั่งการของสมองส่วนกลาง และถ้าได้รับสารพิษมากเกินไปขนาดอาจถึงแก่ชีวิตได้

*Clostridium botulinum* มี 3 ชนิด คือ A B และ E เซลล์มีลักษณะเป็นแท่ง (Rod) เจริญเติบโตได้ดีในที่ที่มีอากาศ ทนความร้อนสูง พบอยู่ทั่วไปในดิน มักพบในอาหารประเภทโปรตีน อาหารกระป๋องที่มีความเป็นกรดต่ำ (Low acid canned food) เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อและผักบรรจุกระป๋อง แต่ไม่พบบ่อยนักในผลิตภัณฑ์เนื้อที่มีการเติมสารไนเตรท เนื่องจากสารนี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *C. botulinum* ได้

2) *Staphylococcus aureus* แบคทีเรียชนิดนี้สามารถผลิตสารพิษพวก enterotoxin ซึ่งสร้างขึ้นภายในเซลล์ และเมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารที่มีเซลล์ของแบคทีเรียเป็นจำนวนมากพอ จะพบว่าภายใน 2 – 6 ชั่วโมงภายหลังจากได้รับสารพิษ ผู้ป่วยจะเกิดอาการบวมพองของผนังลำไส้และกระเพาะ (Gastrointestinal upset) สารพิษชนิดนี้สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิน้ำเดือด (100 องศาเซลเซียส) ได้นานถึง 60 นาที แต่ถ้าใช้อุณหภูมิสูงถึง 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที จะสามารถทำลายเชื้อนี้ได้

*Staphylococcus aureus* มักพบในอาหารประเภทเนื้อสัตว์ที่ปิ้งย่าง รมควัน และเนื้อสดที่ผ่านการให้ความร้อนในช่วงแรกไม่เพียงพอที่จะทำลายเซลล์ของแบคทีเรียลงได้ แต่ความร้อนที่ใช้ จะเป็นตัวกระตุ้นให้แบคทีเรียที่เหลือรอดอยู่เจริญเติบโต และแบ่งจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็วในช่วงที่ทำให้เย็นลงอย่างช้าๆ และตั้งทิ้งไว้เวลานานถึง 8 – 12 ชั่วโมงก่อนนำมารับประทาน

3) *Clostridium perfringens* พบในเนื้อสัตว์หลายชนิด ได้แก่ เนื้อโค สุกร แกะ และไก่ ทั้งในเนื้อสดและผลิตภัณฑ์ แต่ส่วนใหญ่จะพบในเนื้อที่ผ่านการทำให้สุก และทิ้งไว้ให้เย็นลงอย่างช้า ๆ ผู้ที่บริโภคเชื้อนี้เข้าไปจะมีอาการปวดท้อง และท้องเสียภายหลังจากรับประทานอาหารที่มีเชื้อ *C. perfringens* ปนเปื้อนอยู่ในปริมาณมากเป็นเวลา 18 – 22 ชั่วโมง การหุงต้มโดยปกติจะสามารถทำลายเซลล์ของแบคทีเรียพวกนี้ได้ แต่หากต้องการทำลายสปอร์ของเชื้อนี้แล้ว จะต้องใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้นอีก

### 2.3.2.3 แบคทีเรียที่ติดเชื้อมาจากอาหารพวกเนื้อสัตว์ (Food borne infection)

เกิดจากเชื้อแบคทีเรียพวก *Salmonella* ที่ปนเปื้อนอยู่ในปริมาณมาก แบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ในร่างกายของผู้ที่บริโภคเชื้อนี้เข้าไป จากนั้นแบคทีเรียชนิดนี้จะผลิตสารพิษ endotoxin ขึ้นภายในเซลล์ ทำให้ผู้ที่ติดเชื้อมีอาการเวียนศีรษะ อาเจียน และท้องเดิน

ระยะเวลาของการพักตัว หรือช่วงเวลาหลังรับเชื้อเข้าไป ถึงปรากฏอาการออกมาจะใช้เวลานานกว่า 6 ชั่วโมง

#### 2.3.2.4 จุลินทรีย์ที่ทำให้เนื้อสัตว์เสื่อมสภาพ (Meat deterioration microorganism)

การเสื่อมสภาพของเนื้อสัตว์เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นแบบต่อเนื่อง เริ่มตั้งแต่การฆ่าแหละและการตัดแต่งซาก การเติมสารหมัก (Curing agents) เครื่องเทศ (Spices) สารป้องกันการเหม็นหืน (Antioxidants) แล้วตามด้วยการแปรรูปโดยใช้ความร้อน และการรมควัน การเสื่อมสภาพจะเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ ดังนั้น เนื้อที่นำมาใช้แปรรูปเพื่อทำเป็นผลิตภัณฑ์จึงไม่ควรมีสิ่งแสดงให้เห็นถึงความเสื่อมสภาพของรสชาติและลักษณะปรากฏต่างๆ เกิดขึ้นเพราะในการใช้สารเคมีเพื่อหมักเนื้อและการใช้ความร้อนในการแปรรูปไม่สามารถกลบเกลื่อนความเสื่อมสภาพของวัตถุดิบที่ใช้ และเมื่อเนื้อผ่านการแปรรูปแล้วต้องพยายามลดขอบเขตของปริมาณการเสื่อมสภาพให้เกิดขึ้นน้อยที่สุด เมื่อนำไปผ่านขบวนการแปรรูปแล้ว จะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีอายุการเก็บรักษานานมากขึ้น

การเสื่อมสภาพของเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ที่เก็บไว้ในตู้เย็นนานๆ หรือเก็บที่อุณหภูมิห้องในช่วงระยะเวลาหนึ่ง ส่วนใหญ่จะมีสาเหตุเนื่องมาจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำหรือในอากาศ โดยจะเกิดการปนเปื้อนในขณะที่ทำการฆ่า ฆ่าแหละ และตัดแต่งซาก รวมไปถึงในระหว่างการขนส่งด้วย จุลินทรีย์จะเข้าปนเปื้อนทางรอยแผลที่แทงคอหรือเชือดคอ ทางรอยมีดที่ตัดซาก หรือจากการสัมผัสด้วยมือ หรือเสื้อผ้าของผู้ปฏิบัติงาน จากผิวหนังของสัตว์ หรือจากใบเลี้ยงที่ทำการแบ่งครึ่งซาก เช่น ในกรณีที่ฆ่าแหละซากสุกร จะมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จากมีดที่ใช้แทงคอ และการใช้น้ำร้อนลวกซากสุกร ก่อนเข้าสู่กระบวนการชำแหละ ซึ่งกระบวนการเหล่านี้จะเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้จุลินทรีย์ปนเปื้อนเข้าสู่ซากโดยผ่านทางผิวหนังและขนของสุกรเข้าไปยังเลือด ผ่านจากเลือดเข้าไปยังกล้ามเนื้อและไขกระดูก ทั้งนี้เนื่องจากหัวใจของสัตว์จะยังคงเต้นอยู่หลังจากการแทงคอใหม่ๆ ซึ่งจะทำให้เกิดการดูดเอาน้ำที่ใช้ลวกซากเข้าไปในซากได้ นอกจากนี้ จุลินทรีย์จะสามารถปนเปื้อนได้อีกจากอวัยวะในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ เช่น จากหลอดอาหาร กระเพาะอาหาร และลำไส้

#### 2.3.3 ลักษณะของการเสื่อมสภาพของเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์

การเสื่อมสภาพของเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์สามารถแยกออกได้เป็น 2 ลักษณะ คือ

##### 2.3.3.1 ลักษณะการเสียเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของรสชาติ

ลักษณะการเสียแบบนี้เกิดขึ้นเนื่องจากการเหม็นหืน (Rancidity) การเหม็นเน่า (Putrefactive) และการเกิดก๊าซและรสเปรี้ยว

### 1) การเหม็นหืน (Rancidity)

การเหม็นหืนเกิดขึ้นได้เนื่องจากปฏิกิริยาของเอนไซม์จากแบคทีเรียและจากปฏิกิริยาการออกซิไดซ์ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว

เอนไซม์จากแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเหม็นหืน ได้แก่ เอนไซม์ไลเปส (Lipase) ที่จะไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) โมเลกุลของไขมันให้แตกออกเป็นกรดไขมันอิสระ และเอนไซม์ออกซิเดส (Oxidase) จะเข้าทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) กับกรดไขมันในองค์ประกอบที่เป็นไขมันในเนื้อสัตว์ จนทำให้เกิดสารที่มีกลิ่นและรสชาติผิดปกติไป

จุลินทรีย์เป็นสาเหตุใหญ่ประการหนึ่งที่ทำให้เกิดการเหม็นหืน แต่ก็ไม่มี ความสำคัญในเนื้อมากนัก เพราะกรดไขมันอิสระที่ถูกปลดปล่อยออกมาโดย hydrolytic cleavage ของไขมันจะยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หลาย ๆ ชนิด โดยเฉพาะสารพวก เปอร์ออกไซด์ (Peroxide) ที่เกิดขึ้นระหว่างการออกซิเดชันของกรดไขมันจะเป็นพิษอย่างยิ่งกับ จุลินทรีย์ แต่การเหม็นที่เพิ่มขึ้นในเนื้อสัตว์ส่วนใหญ่ จะมีผลมาจากปฏิกิริยาการออกซิเดชันของ ไขมันที่มีผลเนื่องจากการที่ออกซิเจนเข้าทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัว ซึ่งมีสาเหตุเนื่องจาก ปริมาณออกซิเจนที่มีอยู่ในภาชนะบรรจุ อุณหภูมิระหว่างการเก็บรักษา แสงสว่างและสาร แคตตาไลต์ (Pro oxidant catalyst) ซึ่งได้แก่ เกลือ ก๊าซไอโซน สารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และ สารพวก strong oxidizing agent ต่าง ๆ แบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของไขมันเป็น แบคทีเรียพวก *Pseudomonas* และ *Achromobacter*

### 2) การเหม็นเน่า (Putrefaction)

การเหม็นเน่านั้นเกิดขึ้นได้เนื่องจากแบคทีเรียพวก *Proteus* และ *Clostridium perfringens* จะเจริญอยู่ในเนื้อสัตว์ และสามารถสร้างเอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีน (Proteolytic enzyme) ขึ้น และย่อยสลายโมเลกุลของโปรตีน สายเปปไทด์ หรือกรดอะมิโนอิสระ ได้ สิ่งที่เกิดจากการย่อยสลายสารประกอบพวกโปรตีน จะทำให้เกิดสารที่ทำให้เนื้อมีกลิ่นเหม็นเน่า ขึ้น ได้แก่ hydrogen sulphide, mercaptans, indole, ammonia, amine และอื่น ๆ

### 3) การเกิดก๊าซและรสเปรี้ยว (Gassing and Souring)

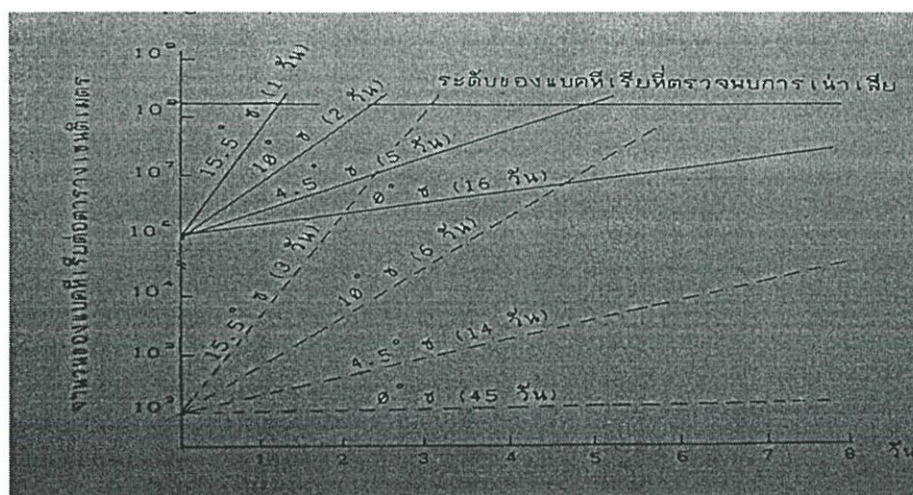
การเกิดก๊าซและรสเปรี้ยวนี้เกิดจากการย่อยสลายสารพวกคาร์โบไฮเดรต ในเนื้อสัตว์ของแบคทีเรียประเภทที่ไม่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต (Anaerobic bacteria) เช่น พวก Lactic acid bacteria ชนิดต่าง ๆ เป็นผลให้เกิดกรดอินทรีย์ต่าง ๆ ขึ้น ทำให้เนื้อมีค่า pH ลดลง และเกิดก๊าซขึ้นในเวลาเดียวกัน แบคทีเรียพวกนี้สามารถเจริญได้ภายในผลิตภัณฑ์ที่ใส่กรอก ขนาดใหญ่หรือในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุแบบสุญญากาศ

### 2.3.3.2 การเสียเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏ

ตัวอย่างของการเสียลักษณะนี้เช่น การเกิดผิวหน้าเป็นเมือก (Surface slime) การเกิดสีต่างๆ บนผิวหน้าของชิ้นเนื้อ และการเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีเนื้อ (Change in color of meat pigments)

#### 1) ผิวหน้าเป็นเมือก (surface slime)

มีสาเหตุเกิดจากแบคทีเรียพวก *Pseudomonas* และ *Achromobacter* พบในเนื้อสัตว์ที่แขวนไว้ในห้องเย็นที่มีความชื้นสูง แต่หากความชื้นในห้องเย็นต่ำจะพบว่ามีพวก *Micrococcus* หรือ *Yeast* ปะปน ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดเมือกขึ้นในพวกผลิตภัณฑ์ไส้กรอก ดังแสดงไว้ในภาพที่ 2.4



ภาพที่ 2.4 แสดงการเน่าเสียของไส้กรอกเวียนนา ซึ่งมีระดับการปนเปื้อนของแบคทีเรียแตกต่างกันที่อุณหภูมิของการเก็บรักษาและเวลาต่างกัน

ที่มา : เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิชญ์ (2536)

ตารางที่ 2.3 แสดงจำนวนของแบคทีเรียที่ช่วยให้เห็นลักษณะเมือกเกิดขึ้นบนผิวหน้า และการเกิด กลิ่นเหม็นในชิ้นเนื้อและผลิตภัณฑ์

อาหาร	จำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย ที่ทำให้เห็นเป็นเมือก*	จำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย ที่ทำให้เนื้อเริ่มมีกลิ่นเหม็น**
เนื้อไก่	$10 \times 10^6 - 60 \times 10^6$	$2.5 \times 10^6 - 100 \times 10^6$
เนื้อวัว	$3 \times 10^6 - 300 \times 10^6$	$1.2 \times 10^6 - 100 \times 10^6$
ไส้กรอก	$130 \times 10^6$	$100 \times 10^6 - 130 \times 10^6$
เนื้อสุก	$10 \times 10^6 - 100 \times 10^6$	-
เบคอน	$1.5 \times 10^6 - 100 \times 10^6$	-
ปลา	-	$1 \times 10^6 - 130 \times 10^6$
ไข่	-	$10 \times 10^6$

\* หน่วยเป็นจำนวนเซลล์ต่อเนื้อพื้นที่หน้าตัด 1 ตารางเซนติเมตร

\*\* หน่วยเป็นจำนวนเซลล์ต่อกรัมของอาหาร

ที่มา : Frazier (1967) อ้างโดย เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์ (2536)

เนื้อที่มีการปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียหรือยีสต์ หรือทั้ง 2 อย่างในปริมาณมาก จะปรากฏเห็นเป็น เมือกสีขาวๆ หรือบางครั้งอาจจะเกิดเป็นเมือกสีเหลืองเกิดขึ้นบริเวณผิวหน้าของชิ้นเนื้อ เมือก (Microbiological slime) เป็นสารที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นในเซลล์ ไม่สามารถย่อยสลายได้ เกิดสะสม ขึ้นในเซลล์ แต่เมื่อปริมาณของจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้น จนสามารถมองเห็นเป็นโคลนนี้ด้วยตาเปล่าได้ ก็จะมีปรากฏเป็นเมือกให้เห็นขึ้น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่บรรจุแบบสุญญากาศมักจะไม่พบการเน่าเสีย ในลักษณะนี้ เพราะการปนเปื้อนของ anaerobic bacteria โดยปกติจะผลิตกรดอินทรีย์ขึ้นระหว่างการ เจริญเติบโต ปริมาณกรดที่เกิดขึ้นจากแบคทีเรียเหล่านี้จะมีผลยับยั้งการเจริญของพวก aerobic bacteria ด้วย แต่ถ้าผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาในสภาพสุญญากาศมีการปนเปื้อนจาก anaerobic bacteria ขึ้น และเก็บรักษาไว้ช่วงเวลาหนึ่ง ก็อาจเกิดการเน่าเสียที่สังเกตเห็นได้ว่าเป็น เมือกสีขาวคล้ายน้ำนม (Whitish liquid) ในผลิตภัณฑ์ที่บรรจุแบบธรรมดา เมือกของแบคทีเรียจะ ปรากฏให้เห็นในรูปของเม็ดลูกบิดเล็ก ๆ ละเอียด เมื่อลองแตะดูจะเป็นยางเหนียวและมีกลิ่นเหม็น (Off - odor) บางครั้งมองเห็นคล้ายกับยีสต์

## 2) การเกิดสีต่าง ๆ บนผิวหน้าของชิ้นเนื้อและผลิตภัณฑ์

การเกิดสีต่างๆบนผิวหน้านี้อาจเกิดขึ้นเนื่องจากแบคทีเรียที่ปนเปื้อนอยู่สามารถ สร้างรงควัตถุที่มีสีเกิดขึ้นในระหว่างการเจริญเติบโต ทำให้มองเห็นเป็นจุดสีต่าง ๆ เกิดขึ้นบน ผิวหน้า เช่น จุดสีแดง (Red spot) อาจมีสาเหตุมาจากเชื้อ *Serratia marcescens* จุดสีเหลือง

(Yellow spot) จากแบคทีเรียพวก *Pseudomonas synchyanea* และจุดสีเขียวแกมน้ำเงินกับสีดำ แกมน้ำตาลจากแบคทีเรียพวก *Chromobacterium lividum*

3) การเปลี่ยนแปลงสีในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Change in color of meat pigments)

การเปลี่ยนแปลงสีในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เกิดขึ้นจากแบคทีเรียพวก *Lactobacillus viridescens* ซึ่งปนเปื้อนเข้ามาในส่วนผสมของเนื้อ ความร้อนที่ใช้ในการอบและรมควันไม่เพียงพอต่อการฆ่าทำลายเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนได้หมด แบคทีเรียที่เหลืรอดอยู่จะเจริญเติบโตและผลิตสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็น strong oxidizing agent สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลเฟอร์รัส (Ferrous ion) ในโครงสร้างวงแหวนพอร์ไฟริน (Porphyrin ring) ของเม็ดสีไมโอโกลบิน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมีในรูปของ verdoheme หรือ choleglobin ทำให้เกิดเป็นสีเขียว (Greening) ขึ้น ซึ่งลักษณะการเกิดสีเขียวนั้นมี 3 แบบ คือ core greening, surface greening และ green rings

#### 2.3.4 จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อสดและการควบคุม

ในเนื้อสดนั้นโดยปกติแล้วจะมีแบคทีเรียพวก *Pseudomonas* เป็นสาเหตุให้เกิดการเน่าเสียขึ้นในรูปของกลิ่นผิดปกติ (Off – odor) และรสชาติผิดปกติ (Off – flavor) ส่วนในช่วงการขนส่งการตัดแต่งและการบรรจุผลิตภัณฑ์เนื้อสดจะมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* spp. ที่ปนเปื้อนอยู่บนวัสดุ อุปกรณ์ที่ใช้ในการตัดแต่งและบรรจุและจากมือที่สัมผัสชิ้นเนื้อของผู้ประกอบการ

ในสภาพของเนื้อที่ตัดแบ่งครึ่ง หรือแบ่งสี่ที่เก็บรักษาไว้ในห้องเย็นที่อุณหภูมิประมาณ 32 องศาฟาเรนไฮต์ เพื่อทำการบ่มเนื้อให้นุ่ม (Aging) ที่บริเวณผิวหน้าของเนื้ออาจจะมีเชื้อราขึ้นอยู่โดยรอบ โดยทั่วไปแล้วจะเป็นเชื้อราพวก *Cladosporium*, *Thamnidium* หรือ *Mucor* ซึ่งวัตถุประสงค์ของการบ่มเนื้อก็เพื่อให้เนื้อมีความนุ่มตามที่ต้องการ และมีกลิ่นรสที่เฉพาะที่เรียกว่า aged flavor ขึ้นซึ่งจนถึงปัจจุบันนี้ยังไม่ได้มีข้อพิสูจน์ที่สามารถยืนยันได้ว่าจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในเนื้อนั้นมีความสัมพันธ์กับความนุ่มและกลิ่นรสของเนื้อหรือไม่

การควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อสดทำได้โดยการทำความสะอาดวัสดุ อุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการฆ่า การชำแหละและการตัดแต่งซากทุกครั้งที่ใช้ปฏิบัติการเสร็จด้วยน้ำผสมคลอรีนหรือกรดแลคติก ล้างมือทุกครั้งหลังจากปฏิบัติงาน เสื้อผ้า ที่คลุมผม รองเท้าต้องทำความสะอาดทุกครั้ง ในห้องที่เก็บเนื้อสดควรจะมีการควบคุมให้มีความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 90 – 95 เปอร์เซ็นต์ โดยจะต้องพยายามควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ในห้องเก็บเนื้อสดไว้ให้มีค่าสูงที่สุด เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำในระหว่างการเก็บรักษา จึงต้องมีการควบคุมความเร็วของลมหมุนเวียนในห้องเก็บเนื้อให้เหมาะสมด้วย

### 2.3.5 เชื้อจุลินทรีย์สำคัญที่พบปนเปื้อนในเนื้อสัตว์

#### 1) *Salmonella* spp.

โดยทั่วไปมักจะพบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในเนื้อสัตว์ ซึ่งปริมาณที่พบจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับ การดูแลจัดการสัตว์ตั้งแต่อยู่ในฟาร์ม เชื้อนี้อาจปนเปื้อนมาในอาหารสัตว์ นอกจากนี้ การจัดการในขบวนการผลิตในโรงงานฆ่าสัตว์ที่สะอาดถูกสุขลักษณะ จะป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้ที่มีอยู่ในส่วนของทางเดินอาหาร ลำไส้และผิวหนังของสัตว์

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อชนิดนี้

- อุณหภูมิอยู่ในช่วง 5 – 47 องศาเซลเซียส
- ค่า pH ในเนื้อประมาณ 6.5 – 7.5 แต่ที่ pH ระหว่าง 4 -5 ก็ยังพบการเจริญของเชื้อชนิดนี้ได้
- ค่า water activity (Aw) ประมาณ 0.995
- สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

*Salmonella* *Thyphimurium* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่มีความสำคัญมากที่สุด เพราะพบว่าเป็นสาเหตุสำคัญของโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งพบการปนเปื้อนของเชื้อนี้ในเนื้อไก่มากที่สุด

#### 2) *Staphylococcus* spp.

เชื้อนี้พบอยู่ทั่วไปในสภาพแวดล้อม เช่น อากาศ ฝุ่น น้ำ อาหารและอุจจาระ มนุษย์ นั้นเป็นแหล่งสำคัญที่ทำให้เชื้อโรคแพร่กระจายตัวไป โดยเฉพาะในขั้นตอนที่คนเข้าไปปฏิบัติงาน เช่น การชำแหละตัดแต่งซาก สามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน แต่จะเจริญได้ดีในสภาพที่ไม่มีอากาศ

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

- อุณหภูมิมีต่ำสุด 10 องศาเซลเซียส และสูงสุดที่ 45 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิช่วงที่เหมาะสมคือ 35 – 37 องศาเซลเซียส
- ค่า pH ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 5 – 9
- ค่า Aw อยู่ระหว่าง 0.86 – 0.99

เชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถสร้างสารพิษ enterotoxin ที่เมื่อคนบริโภคเข้าไปจะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เป็นเชื้อที่มีความสำคัญรองลงมาจาก *Salmonella* spp. และพบว่าเป็นเชื้อที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในเนื้อ

#### 3) *Campylobacter jejuni / coli*

เชื้อนี้จะพบในระบบสืบพันธุ์ ระบบทางเดินอาหาร และช่องปากของคน มีรายงานว่าพบการปนเปื้อนของเชื้อนี้บนซากไก่สดในระหว่างกระบวนการผลิต และยังพบในไก่แช่แข็ง

ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อที่ติดมากับอาหารเพียง 500 เซลล์ สามารถทำให้เกิดการเจ็บป่วยจากอาหารเป็นพิษได้

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

- อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือ 32 – 45 องศาเซลเซียส มีรายงานว่าเชื้อนี้สามารถมีชีวิตอยู่ในเนื้อมดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 1 สัปดาห์ แต่พบว่าเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 10 สัปดาห์ ปริมาณเชื้อจะลดลงเป็นอย่างมาก
- ค่า pH ที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 6 – 8 โดยเฉพาะในเนื้อที่เป็น DFD แต่พบว่าที่ pH ระหว่าง 5.0 – 5.5 เชื้อจะไม่สามารถเจริญได้

#### 4) *Listeria monocytogenes*

มักพบเชื้อนี้ทั่วไปในสภาพแวดล้อม และมูลสัตว์ เชื้อนี้สามารถติดมากับคนที่ทำงานได้ สามารถเจริญได้ในที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

- อุณหภูมิต่ำสุด 4 องศาเซลเซียส และสูงสุดที่ 45 องศาเซลเซียส แต่ช่วงที่เหมาะสมคือ 37 องศาเซลเซียส
- ค่า pH ต่ำสุด 4.7 สูงที่สุด 9.2 แต่ช่วงที่เหมาะสมคือ 7
- ค่า Aw ต่ำสุดที่เชื้อสามารถเจริญได้คือ 0.92

#### 5) *Escherichia coli* O157:H7

เป็นเชื้อที่พบได้ในทางเดินอาหารของคนและสัตว์ เชื้อ *E. coli* จำนวนมากไม่มีอันตรายต่อคนและสัตว์ แต่กลุ่ม *E. coli* O157:H7 นั้นเป็นพวก enteropathogenic ซึ่งทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เนื่องจากสารพิษที่สร้างขึ้น (Verotoxin) เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในที่มีและไม่มีออกซิเจน เป็นเชื้อที่มีความทนต่อการเก็บรักษาในอุณหภูมิต่ำ

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

- อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30 – 42 องศาเซลเซียส มีรายงานพบว่าในเนื้อมดที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เชื้อยังสามารถมีชีวิตรอดได้แต่จะไม่มีการเพิ่มจำนวน
- ค่า pH ต่ำสุด 4.3 สูงสุด 9.5 แต่ที่เหมาะสมคือ 6 – 7
- ค่า Aw ประมาณ 0.96

เชื้อแบคทีเรียที่นับว่ามีความสำคัญในระยะหลังนี้ และในบางประเทศได้กำหนดให้มีการตรวจในเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะในเนื้อสุกรและเนื้อไก่ คือ *Yersinia* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิดแกรมลบ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต คือ 33 องศาเซลเซียส แต่ก็สามารถเจริญได้ในที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส

### 2.3.6 การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการฆ่าสัตว์

จุฑารัตน์ เศรษฐกุล (2540) ได้สรุปถึงการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการฆ่าไว้ดังนี้

1) การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สามารถพบได้ตั้งแต่อยู่ในฟาร์มจากสภาพแวดล้อม เช่น แหล่งน้ำ อาหารสัตว์ ตัวสัตว์ที่ติดเชื้อมาก่อน ซึ่งเชื้อ Salmonella ส่วนใหญ่จะปนเปื้อนมาในอาหารสัตว์ ถ้าสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อมาก่อนในอาหารสัตว์ลงได้ จะสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อในเนื้อสัตว์ได้เป็นอย่างมาก แหล่งอาหารสัตว์ที่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุดคือ ปลาป่น เนื้อและกระดูกป่น เลือดป่น เป็นต้น

2) การเคลื่อนย้ายสัตว์จากฟาร์มไปยังโรงฆ่าสัตว์ เป็นการนำสัตว์จากหลาย ๆ แหล่งมาอยู่รวมกัน จะทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อโรคจากสัตว์ตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่งได้ เช่น จากมูลสัตว์ที่ขับถ่ายออกมา นอกจากนี้ปริมาณ  $CO_2$  และ  $NH_3$  ที่เกิดขึ้นในคอกพักสัตว์ จะมีผลต่อการเพิ่มการเคลื่อนตัวของสารในลำไส้ ทำให้มีการขับถ่ายเพิ่มมากขึ้น ซึ่งในมูลสัตว์พบว่ามีเชื้อ Salmonella อยู่มาก

3) ขั้นตอนการทำให้สลบโดยการใช้อีพิน (Captive bolt) พบการปนเปื้อนที่บริเวณแห่งเหล็กที่ถูกขับออกมาจากการยิง ซึ่งเป็นทางหนึ่งที่ทำให้เชื้อเข้าสู่ร่างกาย

4) ขั้นตอนการแทงคอเอาเลือดออก จะเป็นโอกาสทำให้เชื้อเข้าสู่ร่างกายบริเวณบาดแผล ซึ่งเชื้ออาจติดอยู่ที่บริเวณผิวหนังสัตว์ หรืออุปกรณ์ที่ใช้ไม่สะอาด และโดยเฉพาะอย่างยิ่งเข้าสู่ทางบาดแผลที่อาจเปิดกว้างมาก ทำให้เชื้อเข้าสู่ร่างกายได้มาก

5) ขั้นตอนการถลกหนังในโค พบว่ามีส่วนทำให้ซากเกิดการปนเปื้อนขึ้นได้ เนื่องจากบริเวณหนังสัตว์มีการปนเปื้อนเชื้อสูง และนอกจากนี้วิธีการถลกหนังจากคอ ไหล่ ไปสู่ขาหลัง จะพบการปนเปื้อนของเชื้อสูงกว่าการลอกในทิศทางกลับกัน เนื่องจากขณะหนังถูกถลกขึ้นจากบริเวณคอซึ่งมีบาดแผลและเลือดที่เกิดจากการแทงคอปนเปื้อนที่จะมีเชื้อจุลินทรีย์อยู่สูงกว่า จะเท่ากับเป็นการกระจายเชื้อไปสู่ซากบริเวณอื่นได้

6) การปนเปื้อนในกระบวนการลวกซาก (Scalding) โดยทั่วไปขั้นตอนการลวกซาก จะสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียได้ เนื่องจากอุณหภูมิน้ำร้อนที่ใช้ลวกซากนั้นประมาณ 58 – 62 องศาเซลเซียส ซึ่งจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะถูกทำลาย แต่จะพบแบคทีเรียที่ทนความร้อนได้ เช่น *Clostridium* spp. และสปอร์ของพวก *Bacilli* spp. ที่สามารถมีชีวิตรอดได้ และเข้าสู่ซากทางบาดแผลที่ถูกแทงคอ (Cross contamination) หรือทางบาดแผลที่ถูกทำลายเนื่องจากความร้อนของน้ำที่ลวกซาก น้ำลวกซากที่อุณหภูมิสูงจะทำลายผิวหนังชั้นนอก ดังนั้น ภายหลังจากขั้นตอนการลวกซากจะพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สูงกว่าเดิม

7) การปนเปื้อนในกระบวนการขูดขน (Dehairing) และขัดขน (Polishing) ในขั้นตอนนี้ เชื้อที่อาจจะติดอยู่กับอุปกรณ์และเครื่องมือที่ไม่สะอาดจะสามารถเข้าสู่ผิวหนังหรือบริเวณ บาดแผลที่แทงคอในขณะที่เครื่องขูดขนและขัดขนกำลังทำงานอยู่กับซาก

8) การปนเปื้อนในกระบวนการเปิดซาก (Evisceration) ในขั้นตอนของการผ่าท้องเพื่อ ล้างเอาเครื่องในออก ถ้าไม่กระทำด้วยความระมัดระวังอาจจะทำให้เครื่องในแตกหรือฉีกขาด มีผล ทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่ภายในทางเดินอาหารและลำไส้ที่ปนเปื้อนบนเนื้อสัตว์ได้

9) การปนเปื้อนในขั้นตอนการตัดแต่งและเลาะกระดูก (Cutting and Deboning) ขั้นตอนนี้จะพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากอุปกรณ์ไม่สะอาด ติดเชื้อโรค จากมือของผู้ปฏิบัติงาน หรืออุณหภูมิภายในห้องตัดแต่งสูง ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ เชื้อจุลินทรีย์ได้

Kotula and Pandya (1995) รายงานว่าในโรงฆ่าสัตว์ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ใน ปริมาณที่สูง เมื่อทำการวิเคราะห์หาเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับขนและผิวหนังภายหลังการเชือดคอ เพื่อเอาเลือดออก แต่ยังไม่ผ่านกระบวนการลวกซาก โดยการสุ่มตรวจหาเชื้อบริเวณหน้าอก (Breast) สะโพก (Thigh) น่อง (Drumstick) และเท้า (Foot) พบว่าค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ พบบริเวณหน้าอกและขาที่มีปริมาณสูงกว่าเชื้อที่พบบนขน ส่วนบริเวณที่พบปริมาณเชื้อปนเปื้อนต่ำ ที่สุด คือ ขา เนื่องจากผิวหนังบริเวณอกและขามีโอกาสได้รับการปนเปื้อนจากอุจจาระที่ติดมากับ กรงได้ง่าย

Sammacro *et al.* (1997) ได้ศึกษาการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp., *Listeria* spp. และ *Yersinia* spp. ในสภาพแวดล้อม บริเวณพื้นผิวในการปฏิบัติงาน เครื่องมือและอุปกรณ์ และ ผู้ปฏิบัติงานของโรงฆ่าสุกรจำนวน 11 โรง โดยการสุ่มตัวอย่างทั้งหมด 219 ตัวอย่าง (พื้นและผนัง ของโรงฆ่า ตะขอ ใต้อุปกรณ์ปฏิบัติงาน เขียง มีด เครื่องผ่าซาก อุปกรณ์ถอนขน มือของผู้ปฏิบัติงาน เสื้อคลุม อ่างล้างมือรวมทั้งพื้น ผนัง และตะขอภายในห้องแช่เย็น) พบว่ามีโรงฆ่า 6 โรง (54.5%) ที่พบ การปนเปื้อน 1 ถึง 4 ตัวอย่างโดยรายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 2.4

Pearson and Dutson (1986) รายงานว่าในขั้นตอนการลวกซากเป็นขั้นตอนที่สามารถลด การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียลงได้ เนื่องจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะถูกทำลายในน้ำลวกซาก แต่ เมื่อเวลาผ่านไป ภายในถังลวกซากจะมีการสะสมของดิน อุจจาระ และเลือดมากขึ้น อาจจะมี เชื้อแบคทีเรียที่สามารถทนความร้อนได้ดีสามารถมีชีวิตรอดได้ จำนวนแบคทีเรียในถังลวกซากจะอยู่ ในช่วงระหว่าง  $10^2$  ถึง  $10^4$  โคโลนีต่อมิลลิลิตร และจำนวนจุลินทรีย์จะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น โดยเมื่ออุณหภูมิเพิ่มจาก 54 องศาเซลเซียส เป็น 60 องศาเซลเซียส จำนวนเชื้อจุลินทรีย์พวกที่ เติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 25 – 40 องศาเซลเซียส บริเวณผิวซากจะลดลงจาก  $10^6$  โคโลนีต่อตาราง

เซนติเมตร เหลือ  $2 \times 10^3$  โคโลนีต่อตารางเซนติเมตร และ Enterobacteriaceae ลดลงจาก  $4 \times 10^3$  โคโลนีต่อตารางเซนติเมตรเหลือน้อยกว่า 70 โคโลนีต่อตารางเซนติเมตร ซึ่ง Thomas and Mcmeekin (2001) ศึกษาพบว่าอุณหภูมิที่ใช้ลวกซากจะทำให้ผิวหนังของซากถูกทำลาย หรือหลุดออกไปทำให้เชื้อแบคทีเรียสามารถแทรกตัวเข้าไปเกาะกับซากได้ง่าย ในขณะที่ Kim et al. (1993) ได้ทำการศึกษาถึงอุณหภูมิต่างๆในการลวกซากโดยใช้อุณหภูมิ 52 56 และ 60 องศาเซลเซียสพบว่า ที่อุณหภูมิสูงสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่า แต่เมื่อตรวจสอบคุณภาพผิวหนังจะพบว่าน้ำที่อุณหภูมิสูงจะทำลายหนังกำพร้ามากกว่าอุณหภูมิต่ำ ทำให้ภายหลังจากขั้นตอนนี้จะพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์สูงกว่าเดิม

ตารางที่ 2.4 แสดงจำนวนตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp., *Listeria* spp. และ *Yersinia* spp.

ตัวอย่าง	จำนวน (ตัวอย่าง)	พบการปนเปื้อนของเชื้อ		
		<i>Salmonella</i> spp.	<i>Yersinia</i> spp.	<i>Listeria</i> spp.
บริเวณสภาพแวดล้อม				
พื้นโรงฆ่า	18 <sup>a</sup>	1 <sup>b</sup>	4 <sup>c</sup>	1 <sup>d</sup>
ผนังโรงฆ่า	19	0	0	2 <sup>e</sup>
อ่างล้างมือ	14	0	0	1 <sup>f</sup>
ร่างกายในห้องเย็น	9	0	0	0
พื้นภายในห้องเย็น	15	0	0	2 <sup>f</sup>
ผนังภายในห้องเย็น	14	0	0	0
อุปกรณ์				
ตะขอ	16	0	0	0
โต๊ะปฏิบัติงาน	16 <sup>a</sup>	1 <sup>b</sup>	2 <sup>g</sup>	0
เขียง	8	0	0	1 <sup>d</sup>
มีด	16	0	0	0
เครื่องผ่าซาก	9	1 <sup>b</sup>	0	0
อุปกรณ์ชุดขน	7	0	0	0
ตะขอในห้องเย็น	14	0	0	0

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

ตัวอย่าง	จำนวน (ตัวอย่าง)	พบการปนเปื้อนของเชื้อ		
		<i>Salmonella</i> spp.	<i>Yersinia</i> spp.	<i>Listeria</i> spp.
ผู้ปฏิบัติงาน				
มือ	22	0	0	0
เสื้อคลุม	22	0	0	0
รวมทั้งหมด	219	3	6	7

<sup>a</sup> 1 ตัวอย่างพบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Yersinia* spp.

<sup>b</sup> พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* Derby

<sup>c</sup> พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Y. enterocolitica* และ *Y. kristensennii*

<sup>d</sup> พบการปนเปื้อนของเชื้อ *L. innocua*

<sup>e</sup> พบการปนเปื้อนของเชื้อ *L. welshimeri* และ *L. innocua*

<sup>f</sup> พบการปนเปื้อนของเชื้อ *L. monocytogenes*

<sup>g</sup> พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Y. enterocolitica*

ที่มา : Sammarco *et al.* (1997)

Thoeger (1993) รายงานว่า การใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสฉีดพ่นลงบนซากสุกรนาน 10 นาที แทนการจุ่มซากลงในถังลวกซาก จะสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ลงได้

Huis in't veld *et al.* (1994) กล่าวว่า มักพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อีกครึ่งหนึ่งในช่วงขั้นตอนการถอนขน ขูดขน และขัดขน หากอุปกรณ์เหล่านั้นได้รับการทำความสะอาดอย่างไม่มีประสิทธิภาพ จะพบการสะสมของขนและสิ่งสกปรกต่างๆ ซึ่งเชื้อแบคทีเรียจะสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วในเวลาข้ามคืน เป็นสาเหตุอีกอันหนึ่งของการแพร่กระจายเชื้อไปยังส่วนต่างๆ ของโรงฆ่า

Sadide – Albornoz (1995) ได้ทำการตรวจหาเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* และ *Clostridium perfringens* บนเนื้อสุกรโดยสุ่มตัวอย่างจากบริเวณเนื้อสันนอก สะโพกที่ติดกับซากสุกร สันนอกที่ตัดแต่งเอากระดูกออก ทำการสุ่มตัวอย่างจากขั้นตอนต่างๆ คือ ภายหลังขั้นตอนการเผาขนและขัดขน ภายหลังเสร็จสิ้นกระบวนการ เก็บไว้ในห้องเย็น 24 ชั่วโมง ก่อนบรรจุ และทำการบรรจุด้วยระบบสุญญากาศ แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 วัน ผลการทดลองที่ได้จะแสดงไว้ในตารางที่ 2.5 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อที่พบมากที่สุดในการศึกษาครั้งนี้คือ *Staphylococcus aureus*

ซึ่งพบมากที่สุดบริเวณเนื้อสันนอกและสะโพก ภายหลังจากการเก็บในห้องเย็น 24 ชั่วโมง เชื้อ *Salmonella* spp. พบมากเป็นอันดับที่สอง โดยพบมากที่สุดบริเวณเนื้อสันนอกและสะโพก ภายหลังกระบวนการเผาขน แต่ไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. ในเนื้อสุกรที่บรรจุด้วยระบบสุญญากาศแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 36 วัน ส่วนเชื้อ *Listeria monocytogenes* นั้นตรวจไม่พบก่อนการบรรจุ แต่หลังจากผ่านกระบวนการบรรจุแล้ว เชื้อดังกล่าวกลับเพิ่มขึ้นถึง 4.4% และเชื้อ *Yersinia enterocolitica* จะพบภายหลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการฆ่าทุกขั้นตอน และภายหลังจากการบรรจุ ในขณะที่เชื้อ *Clostridium perfringens* นั้นจะพบในช่วงก่อนบรรจุเท่านั้น

ในขั้นตอนการตัดแต่งก็เป็นอีกขั้นตอนหนึ่งที่มักพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากอุปกรณ์ที่ใช้และจากผู้ปฏิบัติงาน Longdell (1994) ได้รายงานว่าการพัฒนาเครื่องมือที่ใช้ถอดกระดูกสันหลังออกจากกล้ามเนื้อสันนอก โดยที่ประสิทธิภาพของเครื่องสามารถถอดกระดูกได้ 9 ชิ้นต่อนาที อุปกรณ์ดังกล่าวนั้นมีข้อดีในด้านการลดการปนเปื้อนจากมือและมิดที่ใช้ในการปฏิบัติงาน แต่ก็มีข้อเสียคือ เปอร์เซ็นต์สูญเสียจากการตัดแต่งจะเพิ่มมากขึ้นโดยจะเพิ่มขึ้นประมาณ 30 กรัมต่อเนื้อ 1 ชิ้น

ตารางที่ 2.5 แสดงค่าเปอร์เซ็นต์ที่พบเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคจากผิวหนังสุกรในระหว่างกระบวนการฆ่า

ชนิดของเชื้อ	บริเวณที่สุ่มตัวอย่างเนื้อสุกรในโรงฆ่า				
	ส่วนผิวสะโพกและสันนอกที่ติดกับซาก			สันนอกที่ตัดแต่งเอากระดูกออก	
	A <sup>a</sup>	B <sup>a</sup>	C <sup>a</sup>	D <sup>b</sup>	E <sup>c</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> <sup>d</sup>	4.4%	7.4%	2.6%	2.6%	4.4%
<i>Salmonella</i> spp.	4.4%	1.1%	0.4%	0.7%	NF
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.5%	1.9%	1.9%	NF	4.4%
<i>Yersinia enterocolitica</i>	NF	0.4%	NF	NF	4.4%
<i>Clostridium perfringens</i>	NF	NF	NF	0.7%	NF

A = ตัวอย่างซากสุกรภายหลังจากการเผาขนและขัดขน

B = ตัวอย่างซากสุกรภายหลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการฆ่าทุกขั้นตอน

C = ตัวอย่างซากสุกรภายหลังจากเก็บที่ห้องเย็น 24 ชั่วโมง

D = สันนอกที่ผ่านการตัดแต่งเอากระดูกออก

E = สันนอกที่ผ่านการตัดแต่งเอากระดูกออก บรรจุโดยระบบสุญญากาศเก็บไว้ 36 วัน ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส

<sup>a</sup> = ค่าเปอร์เซ็นต์ที่สามารถแยกเชื้อได้จากสันนอกและสะโพก 270 ตัวอย่าง

<sup>b</sup> = ค่าเปอร์เซ็นต์ที่สามารถแยกเชื้อได้จากสันนอก 135 ตัวอย่าง

<sup>c</sup> = ค่าเปอร์เซ็นต์ที่สามารถแยกเชื้อได้จากสันนอก 45 ตัวอย่าง

<sup>d</sup> = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P = 0.0399$ ) จากตัวอย่างตำแหน่ง A และ C

NF = ตรวจไม่พบ

ที่มา : Saide – Albornoz (1995)

Buchanan *et al.* (1992) ได้ทำการศึกษาปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์รวม และเชื้อ *Staphylococcus aureus* บนเนื้อสะโพกโค เนื้อสะโพกสุกร และเนื้อสะโพกไก่ โดยทำการเก็บรักษาในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิต่างกันคือ 5 12 และ 19<sup>o</sup>C แล้วทำการสุ่มวิเคราะห์ตัวอย่างในวันที่ 0 2 4 7 และ 10 พบว่าที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส สามารถชะลอการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์รวม และเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้

Mathieu (1992) ได้กล่าวถึงในกรณีที่โรงฆ่ามีห้องเย็นไม่เพียงพอ การฉีดพ่นสารละลายกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก กรดอะซิติก กรดโพธิโอนิก กรดบิวทริก กรดซอร์บิกและสารละลายโซเดียมคลอไรด์ลงบนซากกุนจะช่วยยับยั้งและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่บนผิวซากลงได้ โดยเฉพาะเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของโรคอาหารเป็นพิษ

Ellerbrock (1997) รายงานว่าในอากาศในขั้นตอนการปฏิบัติงานของโรงฆ่าสัตว์ปีกที่ตำแหน่งต่างๆ พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์รวม และเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.6 โดยพบว่าอากาศในบริเวณรั้วสัตว์ การเอาเครื่องในออก และห้องแช่เย็นมีปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกมากที่สุด เช่น เชื้อ *Micrococcus* spp., *Staphylococcus* spp. และ Yeast และมักพบเชื้อแบคทีเรียแกรมลบในบริเวณที่เอาเครื่องในออก เช่น *Acinetobacter* spp.

Larkin *et al.* (2003) ได้ทำการทดสอบความทนทานต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อ *Salmonella* ที่แยกได้จากซากสุกร ซากไก่ และซากโค จากโรงฆ่าสัตว์เทศบาลในเมืองออนตาริโอ โดยทำการทดสอบกับสารต้านจุลชีพ 9 ชนิด คือ amikacin, ampicillin, cephalothin, chloramphenicol, ciprofloxacin, gentamicin, streptomycin, sulfamethoxazole และ tetracycline พบว่าเชื้อที่พบจากทุกตัวอย่งนั้นมีความทนทานต่อ ciprofloxacin ที่ระดับ 0.125  $\mu\text{g} / \text{ml}$  เชื้อที่แยกได้จาก

ซากไก่และซากสุกรนั้นตอบสนอง (sensitive) ต่อ amikacin ในขณะที่เชื้อที่แยกได้จากซากโคนั้นพบว่าตอบสนองต่อทั้ง amikacin และ gentamicin

ตารางที่ 2.6 แสดงปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์รวมในบรรยากาศ และเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ระหว่างขั้นตอนการรับสัตว์ การเอาเครื่องในออก การตัดแต่งและการถอดกระดูกออก การลดอุณหภูมิแบบใช้ลมเย็น และแบบใช้น้ำเย็นของโรงฆ่าสัตว์ปีก

ตำแหน่ง	เชื้อจุลินทรีย์รวม	เชื้อแบคทีเรียในลำไส้
	(log cfu/m <sup>3</sup> )	(log cfu/m <sup>3</sup> )
การรับสัตว์	4.06	3.24
การเอาเครื่องในออก	3.99	2.63
การตัดแต่งและถอดกระดูกออก	3.40	1.04
การลดอุณหภูมิแบบใช้ลมเย็น	3.28	2.02
การลดอุณหภูมิแบบใช้น้ำเย็น	4.16	2.06

ที่มา : Ellerbroek (1997)

## 2.4 การใช้สารละลายกรดแลคติกในการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

กรดแลคติกเป็นกรดอินทรีย์ที่ได้จากธรรมชาติจากกระบวนการหมักน้ำตาล โดยเชื้อในตระกูล Streptococcaeaceae และตระกูล Lactobacillaceae กรดแลคติกสามารถเตรียมได้จากการหมักน้ำตาลทรายขาวบริสุทธิ์ (Highly refined sucrose) แล้วนำมาทำให้บริสุทธิ์โดยการเปลี่ยนให้เป็นผลึกของ calcium lactate จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับกรดกำมะถัน (Sulfuric acid) เพื่อให้ได้สารละลายกรดแลคติกบริสุทธิ์ สำหรับวิธีอื่นๆ นั้น อาจทำได้โดยการหมักแป้งมันฝรั่งหรือกากน้ำตาลโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* หรือ *Lactobacillus bulgaricus* จากนั้นใช้วิธีการทำให้บริสุทธิ์แบบเดียวกับที่กล่าวมา กรดแลคติกเป็นส่วนประกอบของอาหารบางชนิดซึ่งเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ และมีปริมาณเล็กน้อยแตกต่างกันออกไป

### 2.4.1 คุณสมบัติของกรดแลคติก

โครงสร้างของกรดแลคติก แบ่งตามคุณสมบัติการบิดระนาบแสงโพลาไรซ์ได้ 2 แบบ คือ D ( - ) และ L ( + ) กรดแลคติกในรูป L ( + ) จะพบได้ในสัตว์และมนุษย์ ในมนุษย์เกิดจากเมตาบอลิซึมของกลูโคสหรือไกลโคเจน รวมทั้งยังพบในจุลินทรีย์พวกที่สร้างกรดแลคติก ดังนั้น L ( + ) จึงเรียกได้ว่าเป็น natural หรือ physiological lactic ซึ่งร่างกายมนุษย์สามารถสังเคราะห์ได้ ส่วนกรดแลคติกในรูป D ( - ) จะได้มาจากการสังเคราะห์

จากทฤษฎีที่กล่าวไว้ว่า เมื่อค่า pH ของกรดลดลง 1.0 จะมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเพิ่มขึ้น 10 เท่าตัว (ชัยณรงค์ คันทรพนิต. 2529) มีผลในการยืดเวลาการเน่าเสียของเนื้อออกไป การใช้กรดแลคติกในอุตสาหกรรมอาหารนั้นเป็นที่ยอมรับกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ ได้รับการรับรองความปลอดภัยในการใช้เป็นสารปรุงแต่งรสอาหารในประเทศสหรัฐอเมริกา (FAO / WHO. 1974) อีกทั้งยังมีคุณสมบัติที่สามารถละลายน้ำได้ มีรสชาติแต่จะไม่กลบหรือลบลกกลิ่นรสอื่นๆ เมื่อใส่ลงในผลิตภัณฑ์อาหารจะมีความเป็นพิษต่ำ ไม่เกิดสารตกค้าง (Snijders *et al.* 1985)

#### 2.4.2 กลไกในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยใช้กรดอินทรีย์

ผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยกรดนั้น เกิดจากส่วนที่ชอบไขมัน (Lipophilic) ของกรดที่ใช้ ซึ่งจะอยู่ในโมเลกุลที่ไม่แตกตัวและซึมผ่านเข้าไปในพลาสมาเมมเบรน (Plasma membrane) ของแบคทีเรียที่มี pH ค่อนข้างเป็นกลาง ซึ่งสูงกว่าค่า pH ของไซโตพลาสซึม (Cytoplasm) ดังนั้นเมื่อกรดอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวเข้าไปก็จะเกิดภาวะแตกตัวออกในรูปของโปรตอน (Protons) และคอนจูเกตเตด เบส (Conjugated base) และจะมีผลในการทำลายออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเรชัน ฟอรัม (Oxidative phosphorylation form) ของระบบการขนส่งอิเล็กตรอน (Electron transport system) รวมไปถึงการยับยั้งระบบการขนส่งสารโมเลกุล (Substrate molecule) เข้าสู่เซลล์ และผลในการทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตโดยกรดอินทรีย์นี้จะขึ้นอยู่กับค่าคงที่การแตกตัวของกรด นอกจากนี้ การที่ค่า pH ลดต่ำลงนั้นเป็นผลทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (ชลัท ศานติวารังคณา. 2542)

#### 2.4.3 การใช้สารละลายกรดแลคติกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

การใช้กรดแลคติกมีผลในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทันทีและจะชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทนกรด การทำงานของกรดแลคติกเริ่มจาก กรดแลคติกที่พ่นหรือจุ่มลงในเนื้อจะรวมตัวกับน้ำบริเวณผิวเนื้อสัตว์ และซึมเข้าไปในเซลล์ จากนั้นจะรวมตัวกับเซลล์เป็นเวลา 10 – 60 วินาทีแล้วแยกตัวออกมา การเข้าไปรวมตัวกับเซลล์จะทำให้เซลล์มีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นเกิดกระบวนการทางเคมียับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยที่การใช้กรดแลคติกจะมีผลในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ จากการทดลองของ Oliveria and Brito (1996) ที่ได้ทำการฉีดพ่นสารละลายกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 2 ระดับ คือ 2% (v/v) และ 4% (v/v) พบว่าสารละลายกรดแลคติกสามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมได้ทั้ง 2 ระดับ แต่จะพบว่า เมื่อทำการฉีดพ่นสารละลายกรดแลคติกที่ระดับ 4% (v/v) จะมีน้ำซึมเยิ้มออกมาที่ผิวหน้าของเนื้อ

Alves *et al.* (1995) ทำการศึกษาการใช้สารละลายกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 2 ระดับ คือ 2% (v/v) และ 5% (v/v) ลงบนเนื้อสันนอกของสุกร พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมนั้นลดลง

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ทั้ง 2 ระดับ แต่ที่ระดับความเข้มข้น 5% (v/v) นั้น พบว่าเนื้อมีส่วนที่ลดลงและมีน้ำเยิ้มออกมาอย่างเห็นได้ชัด

Woolthuis and Smulders (1985) ได้ทำการทดลองใช้สารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 1 2 3 และ 5% (v/v) ฉีดพ่นลงบนซากสุกร พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมนั้นจะลดลงไปตามระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกที่เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับความเข้มข้น 5% (v/v) นั้นมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมลดลงมากที่สุด แต่ก็จะทำให้เนื้อมีส่วนที่ชื้นมากและมีน้ำเยิ้มออกมามากที่สุด

คมแข พิลาสสมบัติ (2540) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกในการลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* Derby และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test) พบว่า การลดลงของเชื้อ *Salmonella* Derby จะลดลงอย่างสมบูรณ์เมื่อระยะเวลาที่สารละลายกรดแลคติกสัมผัสกับเนื้อนาน 48 24 และภายในชั่วโมงแรกที่ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกเท่ากับ 1 2 และ 3% (v/v) ตามลำดับ ส่วนการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยการใช้สารละลายกรดแลคติกทั้ง 3 ระดับดังกล่าว ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แต่พบว่าเมื่อระยะเวลาที่สารละลายกรดแลคติกสัมผัสกับเนื้อนานขึ้น จะพบแนวโน้มการลดลงมากที่สุดเมื่อกรดแลคติกสัมผัสกับเนื้อนาน 48 ชั่วโมง

มุสดี ตังวัชรินทร์ (2543ก) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกในการลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* Derby และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test) พบว่า สารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 2% (v/v) ระยะเวลาสัมผัสกับเนื้อนาน 1 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* Derby ที่ระดับเชื้อเริ่มต้น 4 5 และ 6 log CFU / ml ได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่เชื้อ *Staphylococcus aureus* จะลดลงที่ระยะเวลาสัมผัสกับเนื้อนาน 1 นาที ที่ระดับเชื้อเริ่มต้น 4 และ 5 log CFU /ml และ 2 นาที ที่ระดับเชื้อเริ่มต้น 6 log CFU / ml

มุสดี ตังวัชรินทร์ (2543ข) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby และ *Staphylococcus aureus* บนเนื้อสันนอกสุกร โดยทำการเก็บรักษาเนื้อที่อุณหภูมิ 4 และ 15<sup>o</sup>ซ เป็นเวลา 0 1 3 5 และ 7 วัน พบว่า เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4<sup>o</sup>ซ สารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 2% (v/v) สามารถลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* Derby และจะควบคุมจำนวนเชื้อดังกล่าวได้นานถึง 7 วัน ส่วนเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15<sup>o</sup>ซ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อนี้ได้ ในขณะที่เมื่อทำการทดสอบกับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ก็พบว่าให้ผลเช่นเดียวกัน

## 2.5 การใช้แบคทีเรียโอสินในการลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

แบคทีเรียโอสินเป็นโปรตีนที่สร้างจากแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) ซึ่งแบคทีเรียโอสินถูกจัดให้เป็น extracellularly ที่จะปลดปล่อยผลผลิตที่สังเคราะห์ได้จากไรโบโซม (Ribosome) ของแบคทีเรีย มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่น

### 2.5.1 การจัดแบ่งประเภทของแบคทีเรียโอสิน

ซัลท์ ศานติวรางคณา. (2542) รายงานว่าแบคทีเรียโอสินสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม (Class) โดยการที่จะจัดแบคทีเรียโอสินว่าเป็นกลุ่มใดนั้น จะขึ้นอยู่กับขนาด ความคงตัว ตำแหน่งทางพันธุกรรม การดัดแปลงหลังผ่านกระบวนการแปรรหัสทางพันธุกรรม (Post – translational modification) และกลไกการทำงาน (Hill, 1995 ; Nes *et al.*, 1996)

#### Class I : Lantibiotics

เป็นแบคทีเรียโอสินที่มีกรดอะมิโน lantionine เป็นส่วนประกอบ แบคทีเรียโอสินในกลุ่มนี้ได้แก่

##### 1) Nisin

Nisin A ถูกควบคุมการสร้างโดยยีน nis A ขนาด 174 base pair โมเลกุลของ pre – nisin เป็นเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโน 57 ตัว เกิดขึ้นมาหลังกระบวนการแปรรหัสพันธุกรรม และเปลี่ยนมาอยู่ในรูป pro – nisin เมื่อตัดกรดอะมิโนตรงตำแหน่ง leader peptide ของ pre – nisin ออกไป 3 ตัว โมเลกุลจะสมบูรณ์พร้อมและสามารถทำงานได้นั้นต้องผ่านกระบวนการ dehydration ก่อน จะได้ลักษณะโมเลกุลที่มีประจุบวกและไม่ชอบน้ำ โมเลกุลที่ได้มีขนาดเล็ก และมักจะพบอยู่เป็น 2 ไดมเมอร์ (Dimer) ที่มีความเสถียร

Nisin A มีฤทธิ์ในการทำลายเซลล์ที่ไวต่อสารชนิดนี้ได้ภายใน 1 นาที โดย nisin จะมีผลต่อเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม ซึ่งมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งพลังงานของเซลล์ การดูดซึม nisin จะเป็นปฏิกิริยาโดยตรงระหว่างโมเลกุลของ nisin และเยื่อหุ้มเซลล์ บางครั้งเกิดจากประจุบวกของ nisin ทำปฏิกิริยากับประจุลบที่ผนังเซลล์ เมื่อ nisin จะแทรกเข้าไปในเซลล์ จะทำให้เกิดรูชั้นที่ผนังเซลล์ เป็นผลให้สารประกอบน้ำหนักโมเลกุลต่ำภายในเซลล์ไหลออกมาอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ nisin ยังไปลดประจุที่เยื่อหุ้มเซลล์ด้วย nisin สามารถไปทำปฏิกิริยาโดยตรงกับสารในห่วงโซ่อิเล็กทรอนิกส์ได้ เป็นผลให้การรั่วออกซิเจนถูกยับยั้ง เซลล์ที่ไวต่อ nisin จึงไม่สามารถได้รับพลังงานไปใช้ในการสังเคราะห์สารโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน หรือกรดนิวคลีอิก นอกจากนี้ยังพบว่าการเติม chelating agents เช่น EDTA, EGTA, citrate, phosphate จะช่วยให้เซลล์แบคทีเรียแกรมลบมีความไวต่อ nisin โดยสารนี้จะไปรบกวนสภาพที่สมบูรณ์ของผนังเซลล์ ยอมให้แบคทีเรียโอสินเข้าไปในเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม (Cutter *et al.*, 1995)

Nisin Z เป็นแบคทีริโอซินที่มีคุณสมบัติในการแพร่ผ่านวุ้นได้ดีขึ้น และแสดงกิจกรรมทางชีววิทยาเช่นเดียวกับ nisin A แต่จะมีความแตกต่างกันตรงตำแหน่งของกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 27 ของสายเปปไทด์ โดยที่ nisin Z จะมีกรดอะมิโน histidine แทนที่ตำแหน่ง aspartate ของ nisin A และจากการศึกษาของชลัท ศานติวงครณา (2542) พบว่า *Lactobacillus lactis* ssp. *lactis* สายพันธุ์ NSC1 สามารถผลิต nisin ที่มีลำดับกรดอะมิโนตัวที่ 27 เป็นกรดอะมิโน aspartate ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อพิสูจน์ได้ว่าเป็น nisin Z

## 2) Lactocin S

เป็น lantibiotics ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Lactobacillus sake* โมเลกุลที่สามารถทำงานได้จะเป็นเปปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 37 ตัว และมี lantionine เป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย 2 กลุ่ม

## 3) Lacticin 481

เป็น lantibiotics ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Lactobacillus lactis* โครงสร้างปฐมภูมิของ lacticin 481 ไม่มีความสัมพันธ์กับกับ nisin เนื่องจากเมื่อพัฒนาจนเป็นโมเลกุลที่พร้อมจะทำงานแล้ว จะมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนเพียง 27 ตัว และแสดงลักษณะของ lantionine อีกด้วย

## Class II : Small heat – stable bacteriocin

เป็นแบคทีริโอซินที่มีขนาดโมเลกุลเล็ก สายเปปไทด์สั้น ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 36 – 57 ตัว ทนความร้อน ออกฤทธิ์ที่เยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม และไม่ใช้พวก lantibiotics

### 1) Lactococcin A

เป็นแบคทีริโอซินที่มีตำแหน่งของยีนที่สร้างอยู่บน conjugative plasmid p9B4 โมเลกุลที่พัฒนาจนสามารถทำงานได้เป็นเปปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดที่ไม่มีซัลฟิวไรด์ 5 ตัว สำหรับกลไกการทำงานของแบคทีริโอซินชนิดนี้จะเหมือนกับ nisin

Lactococcin A จะออกฤทธิ์ที่เยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมของเซลล์ที่มีความไวต่อสารนี้ โดยจะไปรบกวนความต่างศักย์ไฟฟ้าที่เยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดการรั่วไหล (Leak) ของสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำขนาดเล็ก lactococcin A จะทำปฏิกิริยากับตัวรับ (Receptor) ที่จำเพาะบนผิวของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดรู แต่การเกิดรูโดย lactococcin A จะไม่ขึ้นกับความต่างศักย์ไฟฟ้าบนผิวของเยื่อหุ้มเซลล์

### 2) Lactococcin B

เป็นเปปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 47 ตัว กลไกการทำงานของ lactococcin B จะคล้ายกันกับ lactococcin A ยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง lactococcin B จะอยู่ที่ตำแหน่งเดียวกับ lactococcin A

## 3) Lactococcin M

ยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารจะอยู่บน conjugative plasmid p9B4 เช่นเดียวกันกับ lactococcin A และ lactococcin B แต่จะมีคุณสมบัติที่ต่างกันเล็กน้อย

## 4) Small heat – stable กลุ่มอื่นๆ

แบคทีเรียโอซินในกลุ่มนี้ ได้แก่ pediocin PA – 1 และ pediocin AcH, leucocin A – UAL, mesentericin Y105, sakacin A และ curvacin A แบคทีเรียโอซินเหล่านี้จะเป็นเปปไทด์สายตรงที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 36 – 44 ตัว

กลไกการทำงานของแบคทีเรียโอซินในกลุ่มนี้ยังไม่มีรายงานที่แน่ชัดนักทราบเพียงแต่ว่ากลไกการทำงานของ pediocin PA – 1 นั้นจะทำให้เกิดรูชั้นที่เยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมของแบคทีเรียที่ไวต่อสารชนิดนี้

## 5) Lactacin F

Lactacin F เป็นแบคทีเรียโอซินที่ผลิตมาจากเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* 11088 (NCK88) มีคุณสมบัติเป็นโปรตีนที่เสถียรและทนทานต่อความร้อน สามารถทนต่อการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที มีขนาดโมเลกุล 180 kDa มีโครงสร้างเป็นโปรตีนก่อนกลม มีฤทธิ์ในการยับยั้งกว้าง สามารถยับยั้ง *Lactobacillus acidophilus*, *L. fermentum*, *Enterococcus faecalis*, *L. helveticus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis* และ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

## 6) Lactococcin G

เป็นแบคทีเรียโอซินที่มีกิจกรรมการทำงานโดยอาศัยเปปไทด์ที่อยู่ในรูป  $\alpha$  และ  $\beta$  ซึ่งมีความยาวของกรดอะมิโนประมาณ 39 และ 35 ตัวตามลำดับ เปปไทด์ทั้งสองนี้มีประจุอยู่สูง จึงสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ โดยการทำให้เกิดรูที่เยื่อหุ้มเซลล์

## Class III : Large heat – labile bacteriocin

เป็นแบคทีเรียโอซินที่มีเปปไทด์สายยาว ซึ่งโปรตีนจะสลายตัวได้เมื่อถูกความร้อน ชนิดที่มีการค้นพบ คือ helveticin J ซึ่งผลิตมาจากเชื้อ *Lactobacillus helveticus* 481 เป็นโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุล 37 kDa มีฤทธิ์ในการยับยั้งแคบ ควบคุมการสร้างโดยยีน hlyJ

กลไกการทำงานของแบคทีเรียโอซินชนิดนี้จะแตกต่างจากแบคทีเรียโอซินชนิด class I และ class II ตัวอย่างของแบคทีเรียโอซินที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ caseicin 80, lacticin A และ B และ acidophilin A

### 2.5.2 การใช้แบคทีเรียโอสลินในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

มีการศึกษาพบว่า *Lactobacilli* และ *Streptococci* สามารถสร้างสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่มีโมเลกุลใหญ่พวก acodolin และ nisin ได้ (Juven *et al.*, 1991)

Villani *et al.* (1993) ได้ศึกษาพบว่า *Enterococcus faecalis* 226 ที่แยกได้จาก natural whey culture (NWC) ซึ่งใช้ป็นหัวเชื้อในการผลิต Mozzarella cheese จากนมของกระบือ สามารถสร้างสารแบคทีเรียโอสลินที่เรียกว่า enterocin 226NWC มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้ enterocin 226NWC มีความเสถียรต่อความร้อน

Jimenez – Diaz *et al.* (1993) พบว่าเชื้อ *Lactobacillus plantarum* LPCD สามารถสร้างสารที่มีการทำงานคล้ายแบคทีเรียโอสลิน (bacteriocin – like substance) ซึ่งเรียกว่า Plantaricin D และ T

Olasupo *et al.* (1994) ศึกษาพบเชื้อ *Enterococcus faecium* NA01 ซึ่งแยกได้จาก wara (Nigerian fermented skimmed cow milk) สามารถผลิตแบคทีเรียโอสลินที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียสายพันธุ์ *Lactobacillus*, *Enterococcus* และ *Listeria* ให้ชื่อแบคทีเรียโอสลินที่ค้นพบนี้ว่า enterocin01 มีคุณสมบัติเด่น คือ ทนความร้อนที่อุณหภูมิน้ำเดือด ( $100^{\circ}\text{C}$ ) และจะมีฤทธิ์มากที่สุดสภาพ pH ประมาณ 2.0 – 6.0

Simonella *et al.* (1997) ศึกษาพบว่า *Enterococcus faecalis* และ *Enterococcus faecium* สายพันธุ์ต่างๆ ที่แยกได้จากนมและผลิตภัณฑ์นมในอาร์เจนตินา สามารถสร้างสารต่อต้านเชื้อ *Vibrio cholerae* O1E1T และ *V. cholerae* non – O1 ได้ คุณสมบัติของสารประกอบที่ได้ คือ สามารถทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิ  $100^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 10 – 30 นาที และจากการศึกษาของ Cintas *et al.* (1997) พบว่า *Enterococcus faecium* P13 สายพันธุ์ที่แยกได้จากไส้กรอกเปรี้ยวแบบสเปน สามารถสร้างสารแบคทีเรียโอสลินที่มีคุณสมบัติต้านทานความร้อน (อุณหภูมิ  $100^{\circ}\text{C}$  นาน 60 นาที และ  $121^{\circ}\text{C}$  นาน 15 นาที) เรียกสารนี้ว่า enterocin P มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* และ *C. botulinum* ได้

Cosby *et al.* (1997) พบว่า เชื้อ *Lactobacillus* ที่แยกได้จาก กระเพาะ กุ้ง และไส้ติ่งของไก่ สามารถสร้างสารต่อต้านจุลินทรีย์ขึ้นในระหว่างการเพาะเลี้ยงเซลล์ โดยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Typhimurium ได้ นอกจากนี้ Franz *et al.* (1998) ศึกษาพบว่าเชื้อ *Lactobacillus plantarum* BFE905 สามารถผลิตแบคทีเรียโอสลินที่เรียกว่า Plantaricin D ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* และ Laukova *et al.* (1998) ค้นพบสารต้านจุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่และมีความเสถียรต่อความร้อนจากเชื้อ *Enterococcus faecalis* V24 มาใช้ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้

Callewaert et al. (2000) พบว่าในระหว่างการทำให้กรอกแห้งแบบสเปนทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและในระดับโรงงานขนาดเล็กนั้น เชื้อ *Enterococcus faecium* CCM4231 และ *E. faecium* RZSC13 ซึ่งเป็นหัวเชื้อที่ใช้ในการหมักไส้กรอกสามารถผลิตแบคทีเรียโอซินที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Listeria* spp. โดยสามารถยับยั้งได้อย่างรุนแรง

ผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิดผลิตภัณฑ์อาหารพื้นบ้านของไทยบางชนิดก็อาศัยคุณสมบัติของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกในอาหารในการหมักสารประเภทแป้งหรือน้ำตาลในอาหารเพื่อให้เกิดกรด ทำให้ผลิตภัณฑ์นั้นมีรสเปรี้ยว เช่น แหนมหรือหมูส้ม ซึ่งเป็นอาหารพื้นบ้านของไทย (Sundhakul et al., 1975)

ส่วนประกอบโดยทั่วไปของแหนมจะประกอบไปด้วย เนื้อหมูสับละเอียด ข้าวเหนียวหรือข้าวเจ้าสุก เกลือป่น พริกชี้หนู ซึ่งส่วนประกอบเหล่านี้ก็จะแตกต่างกันออกไปแล้วแต่ท้องถิ่น ทำการหมักทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 สัปดาห์ก็สามารถนำมารับประทานได้ ซึ่งจุลินทรีย์ที่พบในช่วงแรกของหมักแหนมนั้นมักเป็นจุลินทรีย์ที่ติดมากับเนื้อหมู ซึ่งได้แก่ จุลินทรีย์ที่มีรูปร่างเป็นแท่งและที่มีรูปร่างกลม ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ซึ่งแบคทีเรียแลคติกที่มีบทบาทในการหมักแหนมได้แก่ แบคทีเรียสกุล *Pediococcus* และ *Lactobacillus* ซึ่งพบว่าในระยะ 4 วันแรกของการหมัก แหนมจะมีเปอร์เซ็นต์กรดสูงขึ้น และมีความสัมพันธ์กับการลดลงของค่า pH หลังจากระยะดังกล่าวค่า pH จะคงที่โดยที่ยังคงมีการสร้างกรดเพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มปริมาณกรดนี้ยังมีความสัมพันธ์กับจำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ต่างๆในระหว่างการหมักด้วย กล่าวคือ หลังจากหมักได้ประมาณ 24 ชั่วโมง จุลินทรีย์ที่พบในระยะแรกบางชนิดจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งเมื่อจำแนกออกมาแล้วจะพบว่าได้แก่ *P. cerevisiae* และ *Pediococcus* spp. อื่นๆ ซึ่งจากการทดลองของ อรุณช อุตรวิชาติ (2530) ซึ่งได้ทดลองแยกแบคทีเรียรูปกลมจากแหนมและจำแนกชนิด พบว่า ประกอบด้วยแบคทีเรียชนิด *Pediococcus pentosaceus* และ *Pediococcus acidilactici*

*Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 เป็นแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากแหนม ซึ่งมีคุณสมบัติในการผลิตสารแบคทีเรียโอซินในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวกหลายชนิด รวมถึงเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *Listeria monocytogenes* และ *Enterococcus faecalis* และเชื้อสามารถผลิตสารแบคทีเรียโอซินสูงสุด 6,400 activity unit (AU) / มิลลิลิตร ใน MRS broth 100 มิลลิลิตร หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 30°C 20-24 ชั่วโมง (Swetwathana and Lotong, 1999 ; Swetwathana et al. 2000) ซึ่งต่อมาเชื่อดังกล่าวได้รับการตรวจสอบยืนยันว่าเป็นสายพันธุ์ *Pediococcus pentosaceus* และสารแบคทีเรียโอซินที่ผลิตขึ้นเป็น class II bacteriocin ในกลุ่ม pediocin PA-1 (Swetwathana et al. 2004)

แบคทีเรียโอซินที่ผลิตได้จากแบคทีเรียแลคติก จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งและทำลายเชื้อในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกด้วยกัน ซึ่ง pediocin PA-1 ที่ผลิตได้จาก *P. pentosaceus* TISTR 536 จะมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกเช่นเดียวกัน แต่ไม่ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* (Swetwathana and Lotong, 1999 ; Swetwathana et al. 2000) จากรายงานการศึกษาการใช้แบคทีเรียโอซินในการยับยั้งและทำลายกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ และกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกที่ทนต่อการยับยั้งของสารแบคทีเรียโอซิน พบว่าแบคทีเรียโอซินจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งและทำลายแบคทีเรียในกลุ่มดังกล่าวได้ ถ้ามีปัจจัยอื่นร่วมด้วยที่เรียกว่า synergistic effect เช่น มีสภาพความเป็นกรดสูง มีไฮโดรไลติกเอนไซม์ มีสารยับยั้งพวกไนไตรท์ EDTA หรือมีสารพวก chelating agents เป็นส่วนประกอบ เป็นต้น (Hanlin et al. 1993; Stevens et al. 1991; Helander et al. 1997; Swetwathana et al. 2001)

Callewaert et al. (2000) ได้ทำการใช้แบคทีเรีย *Enterococcus* เป็นตัว starter culture ในการทำให้กรอกเบรียบบสเปน ซึ่งแบคทีเรียทั้ง 2 strain นี้ จะผลิตแบคทีเรียโอซินที่ไม่ทำลายแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกตัวอื่น แต่จะมีผลในการทำลายพวก *Listeria spp.* โดยพบว่าปริมาณมีลดลงโดยที่ไม่ทำให้กลิ่นรสของไส้กรอกเปลี่ยนแปลง

Sue et al. (1989) ทำการทดลองใช้แบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากแบคทีเรียแลคติก 3 ชนิด คือ *Lactobacillus lactis* subsp. *lactis* 11454, *Pediococcus pentosaceus* FBB61 และ *Pediococcus pentosaceus* FBB-63-OG2 ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ โดยใช้วิธี agar spot โดยแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคนั้นมีทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียโอซินทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ (*Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. seeligeri* และ *L. welshimeri*) อีกทั้งสายพันธุ์ 11454 ยังสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบบางชนิดได้ เช่น *Aeromonas hydrophila* AH<sub>2</sub>, *Escherichia coli* O157:H7, *Vibrio cholerae* 851 และ *Vibrio parahaemolyticus* A865957

Schöbitz et al. (1999) ทำการทดลองใช้แบคทีเรีย *Carnobacterium piscicola* L103 ที่มีคุณสมบัติเป็น bacteriocin – like substance ในการยับยั้งเชื้อ *Listeria monocytogenes* บนเนื้อโคที่บรรจุถุงสุญญากาศ โดยจะใช้แบคทีเรียโอซินที่สกัดได้จาก *Carnobacterium piscicola* L103 ความเข้มข้น 100 AU / ml พบว่าบนผิวเนื้อมีปริมาณ *Listeria monocytogenes* ลดลงจาก 3.3 CFU cm<sup>-2</sup> เหลือเพียง 0.6 CFU cm<sup>-2</sup> และยังพบอีกว่าสีและกลิ่นของเนื้อไม่เปลี่ยนแปลงด้วย

Helander and Mattila-Sandholm (2000) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของไนซิน (Nisin) ที่มีต่อความสามารถในการให้สารผ่านเข้าออกของเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ (gram – negative) บางชนิดคือ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. marginalis* และ *Salmonella*

Enterica โดยใช้ไนซินจาก Nisaplin<sup>®</sup> (Aplin & Barret, Beaminster, UK) โดยสกัดด้วย 0.02 M HCl เพื่อให้ได้ stock solution ที่มีไนซิน 10,000 AU / ml พบว่าจะทำให้ผนังเซลล์อ่อนแอลง ช่องว่างที่ผนังเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น

El - Knateib *et al.* (1993) ทำการทดลองใช้กรดแลคติก (2% v/v), nisin ( $4 \times 10^4$  IU / ml) และ pediocin PO2 (ผลิตได้จากเชื้อ *Pediococcus acidilactici* PO2) ในการลดปริมาณเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในเนื้อโค โดยทำการจุ่มชิ้นเนื้อขนาด 1 ลบ.ซม. ลงในสารละลายเชื้อผสม *Listeria monocytogenes* 2 strains นาน 1 นาที แล้วนำไปเก็บไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วทำการนับปริมาณเชื้อ *Listeria monocytogenes* โดยพบว่ากลุ่มที่ได้รับสารละลายกรดแลคติกมีปริมาณเชื้อ  $1.7 \log \text{ cfu} / 6 \text{ cm}^2$  กลุ่มที่ได้รับ nisin มีปริมาณเชื้อ  $1.1 \log \text{ CFU} / 6 \text{ cm}^2$  และกลุ่มที่ได้รับ pediocin PO2 มีปริมาณเชื้อ  $0.6 \log \text{ CFU} / 6 \text{ cm}^2$

Grower *et al.* (2003) ได้ศึกษาถึงการใช้ nisin ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เพื่อลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ โดยเคลือบลงบนแผ่นฟิล์มที่ใช้ปิดภาชนะบรรจุ โดยความระดับความเข้มข้นของ nisin ที่ใช้มีตั้งแต่ 9 IU / ml จนถึง 10,000 IU / ml ทำการวัด inhibition zone พบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของ nisin เพิ่มขึ้น ขนาดของ inhibition zone ก็จะมีขนาดใหญ่ขึ้นตามไปด้วย อีกทั้งยังได้ทำการศึกษาถึงการใช้กรดอินทรีย์ต่างๆ อีก 4 ชนิด (กรดแอสคอร์บิก, กรดอะซิติก, กรดแคดติก และกรดไฮโดรคลอริก) ร่วมกับ nisin ที่ระดับ 10,000 IU / ml แล้ววัด inhibition zone พบว่า กรดอะซิติกเมื่อใช้ร่วมกับ nisin สามารถยับยั้งปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้สูงที่สุด

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 อุปกรณ์

##### 3.1.1 เนื้อสุกรทดลอง

เนื้อสุกรที่ใช้ทดลอง ได้แก่ เนื้อสันคอ (Boston shoulder) เนื้อสันนอก (Loin) และเนื้อสามชั้น (Belly) ซึ่งซื้อมาจากเขียงขายเนื้อสุกรชำแหละในตลาดสดหัวตะเข้ ช่วงเวลาเช้าประมาณ 5.00 – 6.00 น. ทั้งนี้ชิ้นส่วนเนื้อสุกรดังกล่าวมาจากซากสุกรที่ผ่านกระบวนการฆ่าจากโรงฆ่าสุกรที่ไม่ได้มาตรฐาน ประมาณ 8 – 9 ชั่วโมงหลังสัตว์ตาย

##### 3.1.2 เชื้อที่ใช้ในการทดลอง

3.1.2.1 เชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 ที่แยกได้จากแหนม

3.1.2.2 เชื้อ *Salmonella* Derby สายพันธุ์ที่ได้จาก WHO Salmonella-Shigella Center, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข

3.1.2.3 เชื้อ *Salmonella* Anatum สายพันธุ์ที่ได้จาก WHO Salmonella-Shigella Center, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข

3.1.2.4 เชื้อ *Staphylococcus aureus* (ATCC 12600<sup>T</sup>)

3.1.2.5 เชื้อ *Listeria innocua* (LTH 3096)

##### 3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

3.1.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth (TSB) (บริษัท Difco จำกัด)

3.1.3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (บริษัท Merck จำกัด)

3.1.3.3 ยีสต์สกัด (Yeast Extract) (บริษัท Merck จำกัด)

3.1.3.4 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) (บริษัท Merck จำกัด)

3.1.3.5 แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 และ 95 %

3.1.3.6 กรดแลคติก (Lactic Acid) (บริษัท Purac จำกัด)

### 3.1.4 เครื่องมือ

3.1.4.1 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator, WTB binder, BD)

3.1.4.2 ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar flow, Dwyer, MARK II)

3.1.4.3 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

3.1.4.4 ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven, Memmert)

3.1.4.5 ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ

3.1.4.6 ไมโครปิเปต (Pipetman, US 40536)

3.1.4.7 ไม้ที่มีสำลีพันปลาย (cotton swab) ปลอดเชื้อ

3.1.4.8 จานแก้วเพาะเชื้อ

3.1.4.9 เครื่องมือวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง ในน้ำ (pH meter, WTW – wiss, techn- Werkstätten D812 weilheim) (electrode – WTW pH - sentix<sup>SP</sup>)

3.1.4.10 เครื่องมือวัดสีน้ำ (Minolta Chromameter CR – 300)

3.1.4.11 เครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์ต่างๆที่จำเป็น

## 3.2 วิธีการดำเนินงาน

3.2.1 ขั้นตอนการเตรียมแบคทีเรียโอซิน (pediocin PA – 1) ที่ได้จากเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536

3.2.1.1 ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ใน MRS broth 5 มิลลิลิตร ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นให้เชื้อแข็งแรงและพร้อมที่จะเจริญสร้างแบคทีเรียโอซินได้อย่างเต็มที่

3.2.1.2 ถ่ายเชื้อ *P. pentosaceus* TISTR 536 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรจากข้อ 1 ลงสู่ MRS broth 100 มิลลิลิตร บ่มเพาะเลี้ยงเชื้อที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง

3.2.1.3 นำ MRS broth ที่ได้จากข้อ 2 ไปทำการเหวี่ยงปั่นแยกเซลล์โดยเครื่อง centrifuge ที่ 5,000 รอบเป็นเวลา 15 นาที ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.2.1.4 นำส่วนของ MRS broth ที่ได้จากการเหวี่ยงปั่นแยกเซลล์มาทำการปรับค่า pH ให้ได้ 6.5 ด้วย 5N NaOH

3.2.1.5 นำส่วนใสที่ทำการปรับค่า pH แล้วจากข้อ 4 ไปทำให้ปราศจากเชื้อโดยผ่านการกรองด้วย sterilized membrane filter ที่มี pore-size ขนาด 0.2 ไมโครเมตร เก็บส่วนใสที่กรองได้ในขวดปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะมีการใช้ในขั้นตอนต่อไป

### 3.2.2 ขั้นตอนการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียโอซิน

3.2.2.1 ทำการเลี้ยงเชื้อ *Listeria innocua* สายพันธุ์ LTH 3096 (ได้รับการอนุเคราะห์เชื้อจาก LTH, Lebensmitteltechnologie Hohenheim University, Stuttgart, Germany) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB – YE 5 มิลลิลิตร บ่มเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 – 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 18 – 24 ชั่วโมง

3.2.2.2 ถ่ายเชื้อ *Listeria innocua* ที่เลี้ยงไว้ปริมาตร 10 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA – YE (ager 1% w/v) 5 มิลลิลิตรที่หลอมจนเหลวแล้ว

3.2.2.4 เททับลงบนจานแก้วที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA – YE ทิ้งไว้ในตู้เย็นที่เย็นนานประมาณ 10 นาที จนไม่มีน้ำหยดบนผิวหน้าอาหาร

3.2.2.5 นำแบคทีเรียโอซิน pediocin PA – 1 ที่เตรียมไว้ในข้อ 1) มาทำการทดสอบหาความเข้มข้นของแบคทีเรียโอซินที่ *P. pentosaceus* TISTR 536 ผลิตได้ โดยทำการเจือจางแบคทีเรียโอซินเริ่มต้นแบบ 2 fold titer dilution ในอัตราส่วน 1:0, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 และ 1:256 จากนั้นหยดสารละลายแต่ละความเข้มข้นลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ 3.2.2.4 บ่มเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูผลการเกิด clear zone ว่าถึงระดับความเข้มข้นที่เท่าใด นำค่าความเข้มข้นสุดท้ายที่เกิด clear zone มาคำนวณหาค่าความเข้มข้นของแบคทีเรียโอซินที่เชื้อผลิต โดยใช้หน่วย Activity Unit ต่อ มิลลิลิตร (AU / ml)

### 3.3 วิธีการทดลอง

แบ่งออกเป็น 3 การทดลอง

3.3.1 การทดลองที่ 1 : ศึกษาผลของการใช้แบคทีเรียโอสลินร่วมกับกรดแลคติกในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby, *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

#### 3.3.1.1 การวางแผนการทดลอง

จัดการทดลองแบบ 2 x 4 x 6 แฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (2 x 4 x 6 Factorial in CRD) ทำการศึกษา 3 ปัจจัย คือ

- ปัจจัย A คือ ระดับของกรดแลคติก 2 ระดับ ได้แก่ 0 % และ 1%
- ปัจจัย B คือ ระดับของแบคทีเรียโอสลิน pediocin PA – 1 4 ระดับ ได้แก่ 0 AU / ml., 320 AU / ml., 640 AU / ml. และ 1280 AU / ml.
- ปัจจัย C คือ ระยะเวลาที่ทำการศึกษา ได้แก่ ชั่วโมงที่ 0, 6, 12, 18, 24 และ 30

ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

#### 3.3.1.2 ขั้นตอนการทดลอง

3.3.1.2.1) เตรียมอาหารเหลว trypticase soy broth (TSB) ปราศจากเชื้อที่มีความเข้มข้นของกรดแลคติก 1%

3.3.1.2.2) เติม pediocin PA-1 ปราศจากเชื้อที่เตรียมได้จาก *P. pentosaceus* TISTR 536 ในข้างต้นในหลอด TSA + กรดแลคติก 1% ให้มีความเข้มข้นของ pediocin PA-1 ในระดับ 320, 640 และ 1,280 AU/ml ตามลำดับ

3.3.1.2.3) ทำการเติมเชื้อที่ต้องการศึกษา ได้แก่ *Staphylococcus aureus* (สายพันธุ์ ATCC 12600<sup>T</sup>) *Salmonella* Derby และ *Salmonella* Anatum (สายพันธุ์ที่ได้จาก WHO Salmonella-Shigella Center, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์) ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงใน TSB เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นให้เชื้อชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการทดสอบมีความแข็งแรงและสมบูรณ์ก่อนการทดสอบ โดยเติมเชื้อให้แต่ละเชื้อมีปริมาณเชื้อเริ่มต้น ในระดับ  $10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในแต่ละหลอดทดลองที่ต้องการทำการทดสอบ ซึ่งรวมถึงหลอดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารใดๆ (TSB) หลอดควบคุมที่มีเฉพาะกรดแลคติก 1 % (TSB + 1% lactic acid) และหลอดควบคุมที่มีเฉพาะ pediocin PA-1 ที่มีระดับความเข้มข้น

ต่างๆ (TSB + 320 AU/ml pediocin PA-1, TSB + 640 AU/ml pediocin PA-1 และ TSB + 1,280 AU/ml pediocin PA-1)

3.3.1.2.4) ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อทั้งหมดในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 ชั่วโมง ทำการสุ่มทดสอบการเจริญของเชื้อในแต่ละเชื้อของแต่ละการทดลองทุกๆ 6 ชั่วโมง จนครบ 30 ชั่วโมงของการศึกษา โดย 10 fold dilution และตรวจนับการเจริญของเชื้อโดยวิธี spread plate technique บนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ trypticase soy agar (TSA) บ่มเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3.3.1.2.5) รายงานการตรวจพบเชื้อของแต่ละเชื้อที่ใช้ศึกษาและในแต่ละปัจจัยที่ทดลองเทียบกับหลอดควบคุมทั้งหมด

### 3.3.1.3 การบันทึกข้อมูล

3.3.1.3.1) บันทึกจำนวนเชื้อ *Salmonella* Derby, *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus*

3.3.2 การทดลองที่ 2 : ศึกษาผลของการใช้แบคทีเรียโอสลินร่วมกับกรดแลคติกในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน

#### 3.3.2.1 การวางแผนการทดลอง

จัดการทดลองแบบ 3 x 3 x 5 แฟคทอเรียลในการทดลองแบบสุ่มตลอด (3 x 3 x 5 Factorial in CRD) ทำการศึกษา 3 ปัจจัย คือ

- ปัจจัย A คือ ระดับของกรดแลคติกและแบคทีเรียโอสลิน 3 ระดับ คือ 0% , 1% + 640 AU / ml. และ 1% + 1,280 AU / ml.

- ปัจจัย B คือ อุณหภูมิการเก็บรักษาเนื้อ 3 แบบ คือ 0-4 องศาเซลเซียส 10 – 15 องศาเซลเซียสและ 30-35 องศาเซลเซียส

- ปัจจัย C คือ ระยะเวลาที่ทำการศึกษา ได้แก่ ก่อนการจุ่มสารละลาย, ชั่วโมงที่ 0, 3, 6 และ 12

ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

#### 3.3.2.2 วิธีการทดลอง

3.3.2.2.1) แบ่งตัวอย่างเนื้อออกเป็น 3 ส่วนขนาดชิ้นละประมาณ 10x5x5 เซนติเมตร

3.3.3.2.2) วัดค่า pH และสีของเนื้อก่อนจุ่มสารละลาย

3.3.3.2.3) นำตัวอย่างเนื้อมาจุ่มสารละลายกรดแลคติกและแบคทีเรียโอซิน ทั้ง 3 ระดับ นานประมาณ 5 นาที

3.3.3.2.4) วัดค่า pH และสีของเนื้อครั้งที่ 2 ภายหลังจากการจุ่มสารละลาย กรดแลคติกและแบคทีเรียโอซิน

3.3.3.2.5) เก็บรักษาเนื้อที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ส่วนที่ 1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส ในห้องเย็น ส่วนที่ 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10-15 องศาเซลเซียสในตู้เย็น และ ส่วนที่ 3 เก็บที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียสที่อุณหภูมิห้อง

3.3.3.2.6) ที่ชั่วโมงที่ 0, 3, 6 และ 12 สุ่มตัวอย่างเนื้อจากทั้ง 3 ส่วนมา วิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์โดยวิธี Total plate count พร้อมทั้งทำการวัดค่า pH ในเนื้อ และสีของ เนื้อ

### 3.3.2.3 การบันทึกข้อมูล

3.3.2.3.1) บันทึกค่า pH และสีของเนื้อก่อนทำการจุ่มสารละลาย

3.3.2.3.2) บันทึกค่า pH ในเนื้อหลังทำการจุ่มสารละลายที่เก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส, 10-15 องศาเซลเซียส และ 30-35 องศา

3.3.2.3.3) บันทึกค่าความเข้มของสีเนื้อหลังการจุ่มสารละลายที่เก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส, 10-15 องศาเซลเซียส และ 30-35 องศาเซลเซียส

3.3.2.3.4) บันทึกจำนวนจุลินทรีย์ก่อนการจุ่มสารละลายและหลังการจุ่ม สารละลายที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส, 10-15 องศาเซลเซียส และ 30-35 องศา เซลเซียส

3.3.3 การทดลองที่ 3 : ศึกษาผลของการใช้แบคทีเรียโอซินร่วมกับกรดแลคติกในการลด ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่มาจกชั้นส่วนใหญ่ต่างกัน

#### 3.3.3.1 การวางแผนการทดลอง

จัดการทดลองแบบ 3 x 3 แฟคทอเรียลในการทดลองแบบสุ่มตลอด (3 x 3 Factorial in CRD) ทำการศึกษา 2 ปัจจัย คือ

- ปัจจัย A คือ ระดับของกรดแลคติกและแบคทีเรียโอสติน 3 ระดับ คือ 0 % , 1 % + 640 AU / ml. และ 1 % + 1,280 AU / ml.

- ปัจจัย B คือ เนื้อสุกรชิ้นส่วนใหญ่ 3 ชนิด คือ สันคอ (Boston Shoulder), สันนอก (Loin) และสามชั้น (Belly) ขนาดประมาณชิ้นละ 10 x 5 x 5 เซนติเมตร ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

### 3.3.3.2 วิธีการทดลอง

3.3.3.2.1) วัดค่า pH ครั้งที่ 1 ในเนื้อแต่ละชนิดและวัดสีเนื้อสันนอังก่อน  
จุ่มสารละลาย

3.3.3.2.2) สุ่มตัวอย่างเนื้อแต่ละชนิดก่อนจุ่มสารละลายเพื่อนำไปวิเคราะห์  
หาจำนวนจุลินทรีย์ก่อนการจุ่มสารละลายโดยวิธี Total plate count

3.3.3.2.3) นำตัวอย่างเนื้อแต่ละชนิดมาจุ่มสารละลายกรดแลคติกและ  
แบคทีเรียโอสตินทั้ง 3 ระดับ

3.3.3.2.4) วัดค่า pH ครั้งที่ 2 ภายหลังจากการจุ่มสารละลายกรดแลคติก  
และแบคทีเรียโอสติน

3.3.3.2.5) เก็บตัวอย่างเฉพาะเนื้อสันนอกเพื่อทำการวัดสีต่อไป

3.3.3.2.6) สุ่มตัวอย่างอีกครั้งภายหลังการจุ่มสารละลายกรดแลคติกและ  
แบคทีเรียโอสตินเพื่อตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์โดยวิธี Total plate count วัดค่า pH พร้อมทั้งวัดสี  
เนื้อสันนอก

### 3.3.3.3 การบันทึกข้อมูล

3.3.3.3.1) บันทึกค่า pH ในเนื้อแต่ละชนิดก่อนทำการจุ่มสารละลาย

3.3.3.3.2) บันทึกค่า pH ในเนื้อแต่ละชนิดหลังทำการจุ่มสารละลาย

3.3.3.3.3) บันทึกค่าความเข้มของสีเนื้อหลังการจุ่มสารละลาย

3.3.3.3.4) บันทึกจำนวนจุลินทรีย์ก่อนและหลังการจุ่มสารละลาย

### 3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาจะนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย General Linear Models (GLM) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Least Square Means ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SAS (SAS. 1985) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ( $P \leq 0.05$ ) สำหรับการทดลองที่ 3 เรื่องการเปรียบเทียบค่าสีของเนื้อในกลุ่มที่ใช้และไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 2 ระดับ (3 treatment) ใช้การวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT วางแผนการทดลองแบบ สุ่มตลอด (CRD)

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

4.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

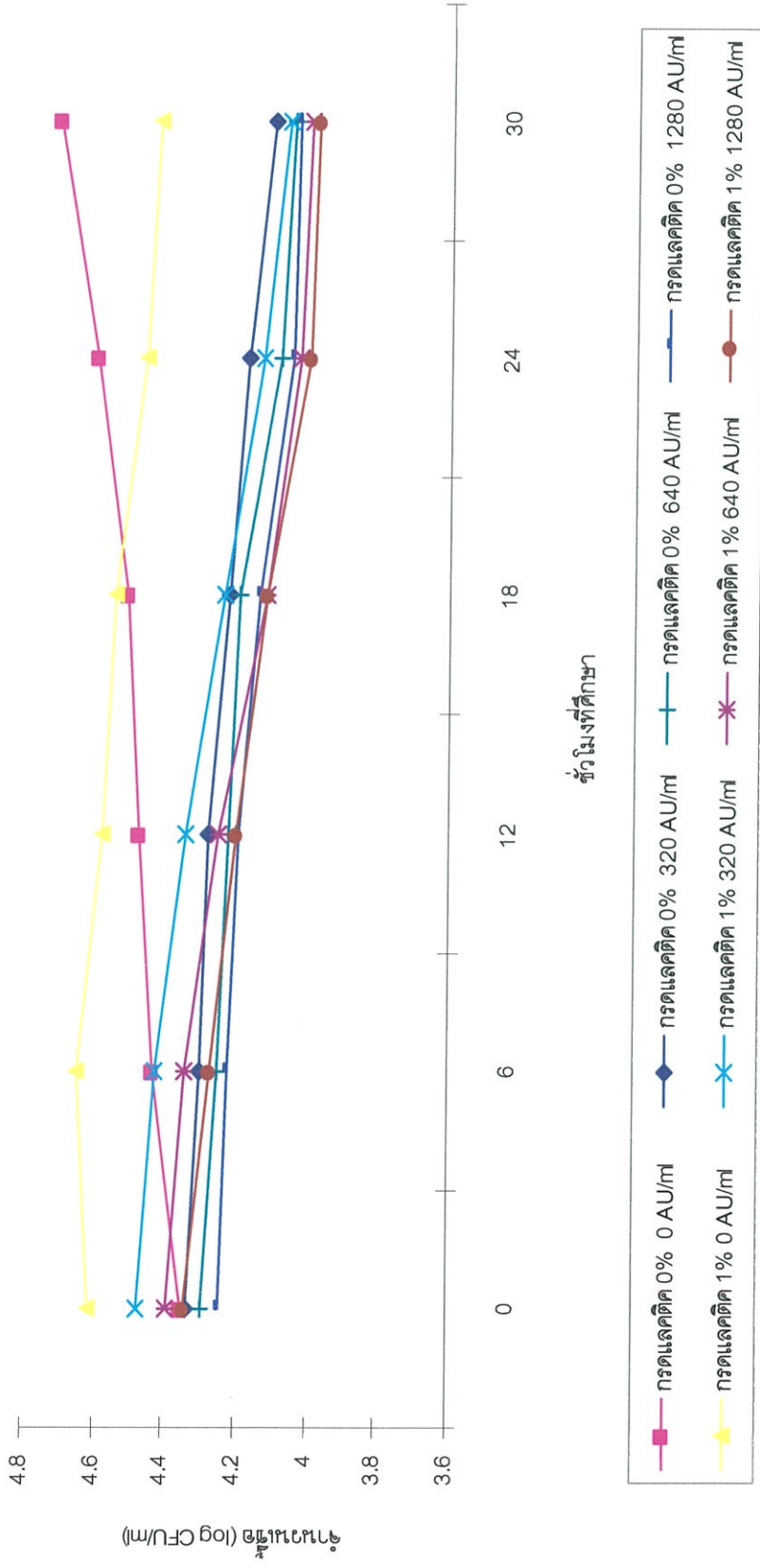
จากการทดลองถ่ายเชื้อ *Salmonella* Derby *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ลงในหลอดทดลองให้ได้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 4 log CFU/ml. แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติก 2 ระดับ คือ 0 และ 1 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่มีความเข้มข้นของแบคทีเรียโอซิน 4 ระดับ คือ 0, 320, 640 และ 1280 AU/ml โดยสุ่มทดสอบการเจริญของเชื้อทุก 6 ชั่วโมงจนครบ 30 ชั่วโมง โดยใช้วิธี Sprade plate technique เพื่อทดสอบผลของกรดแลคติกและแบคทีเรียโอซินในการลดปริมาณเชื้อที่ศึกษา

4.1.1 ผลของการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

ตารางที่ 4.1 ผลของกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

ปริมาณเชื้อ <i>Salmonella</i> Derby (log CFU/ml)								
ชั่วโมงที่ ศึกษา	กรดแลคติก 0%				กรดแลคติก 1%			
	แบคทีเรียโอซิน (AU/ml)				แบคทีเรียโอซิน (AU/ml)			
	0	320	640	1280	0	320	640	1280
0	4.35 <sup>ก</sup>	4.33 <sup>ก</sup>	4.29 <sup>ก</sup>	4.24 <sup>ก</sup>	4.29 <sup>ก</sup>	4.21 <sup>ก</sup>	4.16 <sup>ก</sup>	4.13 <sup>ก</sup>
6	4.43 <sup>ข</sup>	4.30 <sup>ข</sup>	4.25 <sup>ข</sup>	4.22 <sup>ข</sup>	4.31 <sup>ข</sup>	4.18 <sup>ข</sup>	4.13 <sup>ข</sup>	4.09 <sup>ข</sup>
12	4.47 <sup>ข</sup>	4.28 <sup>ข</sup>	4.22 <sup>ข</sup>	4.19 <sup>ข</sup>	4.27 <sup>ข</sup>	4.13 <sup>ข</sup>	4.08 <sup>ข</sup>	4.05 <sup>ข</sup>
18	4.51 <sup>ข</sup>	4.22 <sup>ข</sup>	4.19 <sup>ข</sup>	4.14 <sup>ข</sup>	4.25 <sup>ข</sup>	4.07 <sup>ข</sup>	4.00 <sup>ข</sup>	4.00 <sup>ข</sup>
24	4.60 <sup>ข</sup>	4.17 <sup>ข</sup>	4.08 <sup>ข</sup>	4.05 <sup>ข</sup>	4.20 <sup>ข</sup>	4.01 <sup>ข</sup>	3.95 <sup>ข</sup>	3.93 <sup>ข</sup>
30	4.71 <sup>ค</sup>	4.10 <sup>ข</sup>	4.05 <sup>ข</sup>	4.03 <sup>ข</sup>	4.18 <sup>ข</sup>	3.97 <sup>ข</sup>	3.93 <sup>ข</sup>	3.92 <sup>ข</sup>

<sup>ก-ค</sup> อักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )



ภาพที่ 4.1 แสดงผลของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีริโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อ Salmonella Derby ในหลอดทดลอง (in vitro test)

ผลการทดลองในตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่า กลุ่มที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก 1% และไม่ใช้ pediocin PA – 1 มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นทุกๆ ระยะ 6 ชั่วโมงจนถึง 30 ชั่วโมงที่ศึกษา ( $P < 0.01$ )

กลุ่มที่ใช้กรดแลคติก 1% เพียงอย่างเดียว พบว่า ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในทุกระยะเวลาที่ศึกษาไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แสดงให้เห็นว่า กรดแลคติก 1% สามารถควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ไม่ให้เพิ่มขึ้นได้ แต่ไม่สามารถควบคุมให้เชื้อ *Salmonella Derby* มีปริมาณลดลงได้

กลุ่มที่ใช้ pediocin PA – 1 แต่เพียงอย่างเดียว โดยไม่ใช้กรดแลคติก 1% ร่วมด้วย พบว่า เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึง ชั่วโมงที่ 30 ของการศึกษา ทั้งนี้กลุ่มที่ใช้ pediocin PA – 1 320 AU/ml จะมีประสิทธิภาพน้อยที่สุด และจะพบว่า ที่ความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 640 และ 1280 AU/ml มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ดีกว่า แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง 2 กลุ่มหลังจะเห็นว่าประสิทธิภาพจะไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แม้ว่ากลุ่มที่ความเข้มข้น 1280 AU/ml จะมีแนวโน้มที่ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะลดลงได้มากกว่า

การใช้ pediocin PA – 1 ร่วมกับกรดแลคติก 1% พบว่า สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ pediocin PA – 1 แต่เพียงอย่างเดียว ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ใช้กรดแลคติก 1% และกลุ่มที่ใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 จะเห็นได้ว่ากลุ่มที่ใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ในแต่ละระดับความเข้มข้น จะมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) และประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะยิ่งมีมากขึ้นเมื่อปล่อยให้เชื้อได้สัมผัสกับสารละลายนานขึ้น โดยเมื่อเปรียบเทียบการใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 320 และ 640 AU/ml จะเห็นได้ว่าการใช้ที่ระดับ 640 AU/ml สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) ตั้งแต่ ชั่วโมงที่ 0 ของการศึกษา แต่เมื่อถึงชั่วโมงที่ 6, 12, 18, 24 และ 30 พบว่าปริมาณเชื้อไม่แตกต่างกันมาก ( $P > 0.05$ ) แต่ก็มีแนวโน้มว่าการใช้ในระดับสูงกว่าจะลดปริมาณเชื้อลงได้มากกว่า ส่วนเมื่อเปรียบเทียบการใช้ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 640 และ 1280 AU/ml พบว่าปริมาณเชื้อตั้งแต่ ชั่วโมงที่ 0 จนถึง 30 ของการศึกษาไม่แตกต่างกันมากนัก ( $P > 0.05$ ) แม้จะมีแนวโน้มว่าการใช้ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 1280 AU/ml ร่วมกับกรดแลคติก 1% สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้มากที่สุดตั้งแต่ ชั่วโมงที่ 0 จนถึง ชั่วโมงที่ 30 ของการศึกษา (4.13, 4.09, 4.05, 4.00, 3.93 และ 3.92 log CFU/ml ตามลำดับ)

4.1.2 ผลของการใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสตินในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella Anatum* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

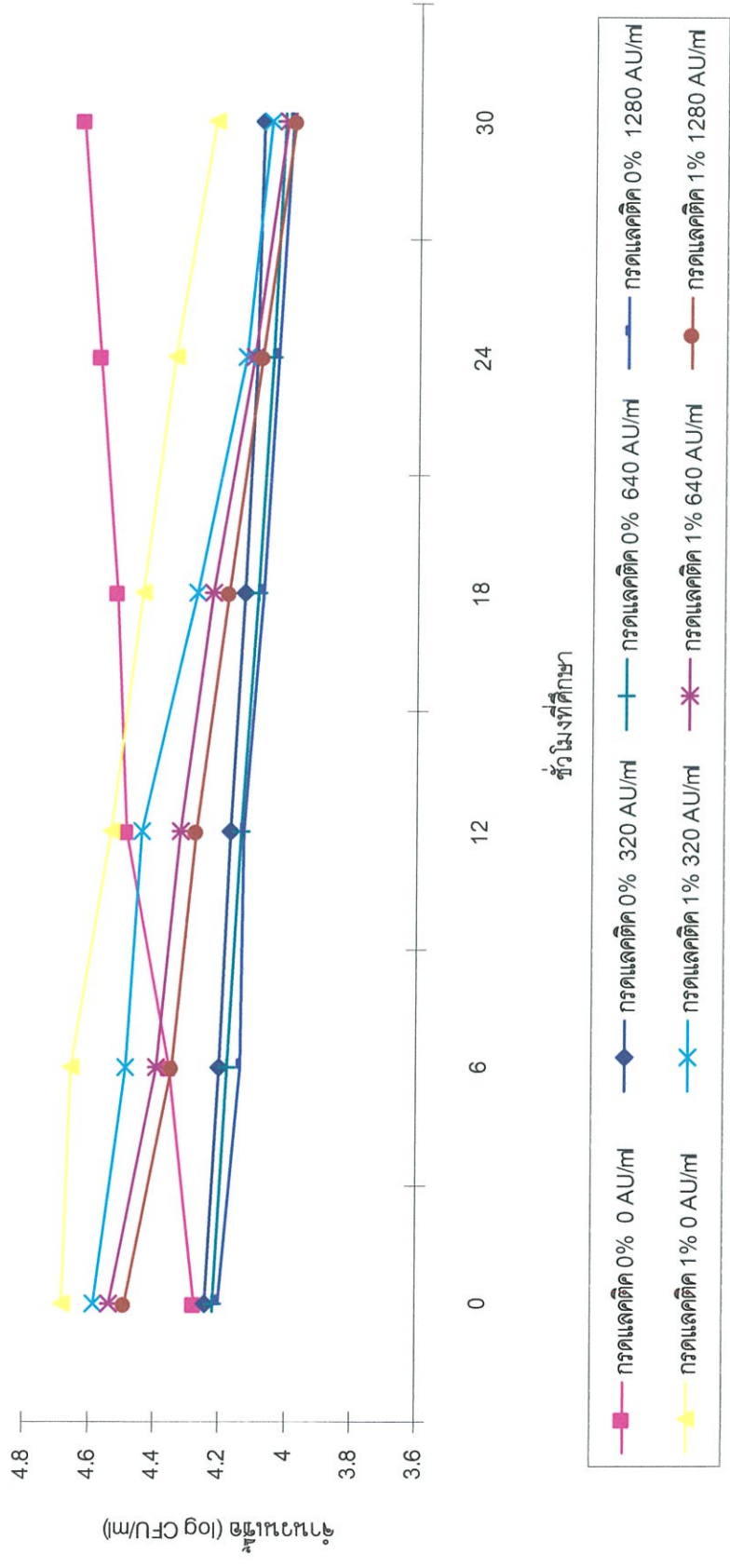
ตารางที่ 4.2 ผลของการลดปริมาณเชื้อโอสตินต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella Anatum* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

ปริมาณเชื้อ <i>Salmonella Anatum</i> (log CFU/ml)								
ชั่วโมงที่ ศึกษา	กรดแลคติก 0%				กรดแลคติก 1%			
	แบคทีเรียโอสติน (AU/ml)				แบคทีเรียโอสติน (AU/ml)			
	0	320	640	1280	0	320	640	1280
0	4.27 <sup>a</sup>	4.24 <sup>a</sup>	4.22 <sup>ab</sup>	4.20 <sup>bc</sup>	4.25 <sup>a</sup>	4.21 <sup>ab</sup>	4.19 <sup>a</sup>	4.17 <sup>a</sup>
6	4.35 <sup>a</sup>	4.20 <sup>a</sup>	4.18 <sup>a</sup>	4.14 <sup>ab</sup>	4.24 <sup>a</sup>	4.17 <sup>a</sup>	4.13 <sup>ab</sup>	4.11 <sup>ab</sup>
12	4.49 <sup>a</sup>	4.17 <sup>a</sup>	4.14 <sup>ab</sup>	4.13 <sup>ab</sup>	4.19 <sup>a</sup>	4.15 <sup>ab</sup>	4.10 <sup>ab</sup>	4.08 <sup>a</sup>
18	4.52 <sup>ab</sup>	4.13 <sup>ab</sup>	4.09 <sup>a</sup>	4.07 <sup>ab</sup>	4.15 <sup>ab</sup>	4.08 <sup>a</sup>	4.06 <sup>ab</sup>	4.04 <sup>ab</sup>
24	4.58 <sup>a</sup>	4.10 <sup>a</sup>	4.05 <sup>ab</sup>	4.03 <sup>a</sup>	4.11 <sup>ab</sup>	4.02 <sup>a</sup>	4.01 <sup>a</sup>	4.00 <sup>a</sup>
30	4.63 <sup>a</sup>	4.08 <sup>a</sup>	4.02 <sup>a</sup>	3.99 <sup>a</sup>	4.06 <sup>a</sup>	3.99 <sup>a</sup>	3.97 <sup>a</sup>	3.96 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup> อักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

ผลการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.2 ซึ่งจะพบว่า กลุ่มที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก 1% และ pediocin PA – 1 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในหลอดทดลองจะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในทุกๆ 6 ชั่วโมงที่ทำการศึกษาจนถึงชั่วโมงที่ 30

การใช้สารละลายกรดแลคติก 1% หรือ pediocin PA – 1 เพียงอย่างเดียวนั้น สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. Anatum* ลงได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) โดยที่การใช้กรดแลคติก 1% เพียงอย่างเดียวสามารถลดปริมาณเชื้อ *S. Anatum* ลงได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) ที่ชั่วโมงที่ 12 ของการศึกษาและเมื่อปล่อยเวลาให้เชื้อสัมผัสสารละลาย พบว่าปริมาณเชื้อลดลงได้เรื่อยๆ ไปจนถึงชั่วโมงที่ 30 ส่วนการใช้ pediocin PA – 1 เพียงอย่างเดียวพบว่ามีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แต่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 เป็นต้นไปจะลดปริมาณเชื้อลงได้มากขึ้นและต่อเนื่องถึงชั่วโมงที่ 30 ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองกับเชื้อ *S. Derby* คือเมื่อทำการเพิ่มระดับความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 ให้มากขึ้นและปล่อยให้ระยะเวลาในการสัมผัสสารละลายของเชื้อนานขึ้น สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้มากขึ้นเช่นกัน โดยจะเห็นได้ว่าการใช้ pediocin PA – 1 ในระดับสูงแต่เพียงอย่างเดียว (1280 AU/ml) สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ



ภาพที่ 4.2 แสดงผลของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซิโนต่อการลดปริมาณเชื้อ Salmonella Anatum ในหลอดทดลอง (in vitro test)

จนถึงชั่วโมงที่ 24 แต่หากเปรียบเทียบกับการใช้ในระดับกลาง (640 AU/ml) แล้วจะพบว่าให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อสูงกว่าอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ )

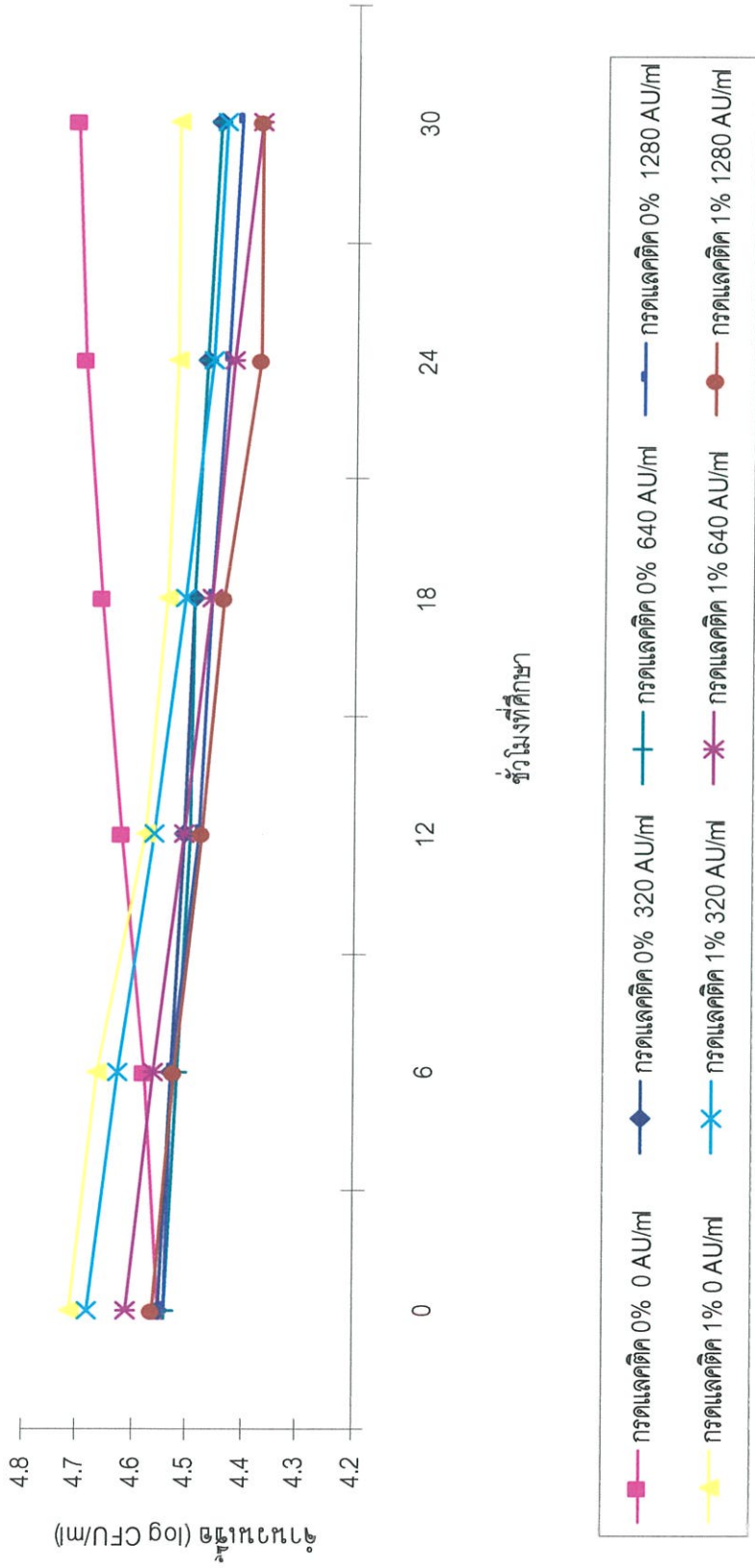
ในขณะที่การใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ใช้ pediocin PA - 1 เพียงอย่างเดียว จะเห็นว่าปริมาณเชื้อ *S. Anatum* ที่ทุกระดับความเข้มข้นของ pediocin PA - 1 ที่ใช้ในชั่วโมงที่ 0, 6, 12 และ 18 ของการปล่อยให้เชื้อสัมผัสกับสารละลาย พบว่า ปริมาณเชื้อมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) แต่จะพบว่า ประสิทธิภาพของการใช้ pediocin PA - 1 ร่วมกับสารละลายกรดแลคติก 1% จะเพิ่มขึ้นและมีปริมาณลดลงในชั่วโมงที่ 24 โดยพบว่าปริมาณเชื้อ *S. Anatum* ของกลุ่มที่ใช้ pediocin PA - 1 320 AU/ml ร่วมกับกรดแลคติก 1% มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 4.02 log CFU/ml ในขณะที่กลุ่มที่ใช้ pediocin PA - 1 เพียงอย่างเดียวมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 4.10 log CFU/ml ( $P<0.01$ ) นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้ pediocin PA - 1 ที่ระดับความเข้มข้น 640 และ 1280 AU/ml ร่วมกับกรดแลคติก 1% ให้ผลในการลดปริมาณเชื้อ *S. Anatum* ทุกระยะชั่วโมงที่ทำการศึกษาไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ใช้ pediocin PA - 1 แต่เพียงอย่างเดียว

#### 4.1.3 ผลของการใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสลินในการลดปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

ตารางที่ 4.3 ผลของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสลินต่อการลดปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

ปริมาณเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> (log CFU/ml)								
ชั่วโมงที่ ศึกษา	กรดแลคติก 0%				กรดแลคติก 1%			
	แบคทีเรียโอสลิน (AU/ml)				แบคทีเรียโอสลิน (AU/ml)			
	0	320	640	1280	0	320	640	1280
0	4.55 <sup>๑</sup>	4.55 <sup>๑</sup>	4.54 <sup>ก๑</sup>	4.54 <sup>ก๑</sup>	4.50 <sup>ก๑</sup>	4.48 <sup>ก</sup>	4.44 <sup>ก๑</sup>	4.41 <sup>๑</sup>
6	4.58 <sup>๑</sup>	4.53 <sup>ก๑</sup>	4.52 <sup>ก๑</sup>	4.53 <sup>ก๑</sup>	4.47 <sup>ก</sup>	4.45 <sup>ก๑</sup>	4.41 <sup>๑</sup>	4.39 <sup>๑</sup>
12	4.62 <sup>๑๑</sup>	4.51 <sup>ก๑</sup>	4.50 <sup>ก๑</sup>	4.48 <sup>ก</sup>	4.42 <sup>๑</sup>	4.41 <sup>๑</sup>	4.38 <sup>๑</sup>	4.36 <sup>ก๑</sup>
18	4.66 <sup>๑</sup>	4.49 <sup>ก๑</sup>	4.49 <sup>ก๑</sup>	4.46 <sup>ก</sup>	4.40 <sup>๑</sup>	4.38 <sup>๑</sup>	4.35 <sup>ก๑</sup>	4.34 <sup>ก๑</sup>
24	4.69 <sup>๑๑</sup>	4.47 <sup>ก</sup>	4.47 <sup>ก</sup>	4.43 <sup>ก๑</sup>	4.39 <sup>๑</sup>	4.35 <sup>ก๑</sup>	4.33 <sup>ก๑</sup>	4.30 <sup>ก</sup>
30	4.71 <sup>๑</sup>	4.45 <sup>ก๑</sup>	4.45 <sup>ก๑</sup>	4.41 <sup>๑</sup>	4.39 <sup>๑</sup>	4.34 <sup>ก๑</sup>	4.30 <sup>ก</sup>	4.30 <sup>ก</sup>

<sup>ก-๑</sup> อักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ )



ภาพที่ 4.3 แสดงผลของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีริโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (in vitro test)

ผลการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.3 ซึ่งจะพบว่าการใช้สารละลายกรดแลคติก 1% เพียงอย่างเดียวนั้นสามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ลงได้มากกว่ากลุ่มควบคุมซึ่งไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก 1% และไม่ใช้ pediocin PA - 1 ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6, 12, 18, 24 และ 30 ของการศึกษา โดยจะเห็นว่าทันทีที่เชื้อสัมผัสกับสารละลาย (ชั่วโมงที่ 0) ปริมาณเชื้อจะลดลงเล็กน้อย ( $P>0.05$ ) แต่เมื่อปล่อยให้เชื้อได้มีเวลาสัมผัสกับสารละลายนานขึ้น คือถึงชั่วโมงที่ 12 สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้มากขึ้น ( $P<0.05$ ) ส่วนการใช้ pediocin PA - 1 ที่ระดับ 320 AU/ml เพียงอย่างเดียวนั้นจะพบว่าประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจะเริ่มต้นขึ้นที่ชั่วโมงที่ 24 ไปจนถึงชั่วโมงที่ 30 ของการศึกษา และเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ pediocin PA - 1 มากขึ้นที่ระดับ 640 และ 1280 AU/ml พบว่าปริมาณเชื้อลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) โดยเมื่อเปรียบเทียบการใช้ pediocin PA - 1 ที่ระดับ 320 640 และ 1280 AU/ml จะพบว่ามีความแตกต่างกันมากนัย ( $P>0.05$ ) แม้ว่าการใช้ที่ระดับ 1280 AU/ml ก็จะมีแนวโน้มในการลดปริมาณเชื้อได้ดีที่สุด

การใช้สารละลายกรดแลคติก 1% แต่เพียงอย่างเดียวก็พบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) และเมื่อใช้ร่วมกับ pediocin PA - 1 ที่ระดับ 320 AU/ml พบว่าปริมาณเชื้อไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติก 1% แต่เพียงอย่างเดียว แต่การเพิ่มความเข้มข้นของ pediocin PA - 1 ที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น พบว่าจะทำให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อสูงขึ้น โดยจะเห็นได้ว่าการใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 ที่ระดับ 640 AU/ml สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 (4.38 log CFU/ml) และให้ประสิทธิภาพสูงที่สุดที่ชั่วโมงที่ 30 ของการศึกษา ส่วนการใช้ที่ระดับ 1280 AU/ml นั้นประสิทธิภาพในการควบคุมปริมาณเชื้อไม่แตกต่างไปจากการใช้ที่ระดับ 640 AU/ml

#### 4.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสซินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิกายเก็บต่างกัน

จากการทดลองใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสซิน 3 ระดับ คือ 0% 1% กรดแลคติก ร่วมกับ pediocin PA - 1 640 AU/ml และ 1% กรดแลคติกร่วมกับ pediocin PA - 1 1280 AU/ml ร่วมกับอุณหภูมิกายเก็บ 3 ระดับ คือ  $0-4^{\circ}\text{C}$   $10-15^{\circ}\text{C}$  และ  $30-35^{\circ}\text{C}$  เพื่อทดสอบผลที่มีต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ค่า pH และสีเนื้อ ( $L^*$ ) ผลการทดลองเป็นดังนี้

#### 4.2.1 อิทธิพลร่วมของสารละลายกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสิน อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

ผลการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.4 จะพบว่าปริมาณจุลินทรีย์ก่อนการสัมผัสสารละลายในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ทุกช่วงอุณหภูมิการเก็บรักษาไม่แตกต่างกัน ( $P>0.05$ ) และเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 แล้วจะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิ  $0-4^{\circ}\text{C}$  ในชั่วโมงที่ 0 ของการศึกษาพบว่าในกลุ่มที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 640 และ 1280 AU/ml มีปริมาณจุลินทรีย์เท่ากับ 6.33 และ 6.30 log CFU/ตร.ซม.ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่ากลุ่มควบคุม (6.42 log CFU/ตร.ซม.) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.01$ ) และปริมาณจุลินทรีย์ยังลดลงไปอีกจนถึงชั่วโมงที่ 12 ทั้งนี้กลุ่มควบคุมจะมีปริมาณจุลินทรีย์ที่ลดลงน้อยกว่ากลุ่มทดลอง

ที่อุณหภูมิการเก็บที่  $10-15^{\circ}\text{C}$  จะพบว่าที่ชั่วโมงที่ 0 ของการศึกษาการใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 640 และที่ระดับ 1280 AU/ml สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ลงได้มากกว่ากลุ่มควบคุม ทั้งนี้จะมีแนวโน้มว่าการใช้สารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ระดับความเข้มข้นสูง (1280 AU/ml) สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ลงได้มากกว่า และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 3, 6 และ 12 พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ทั้ง 2 ระดับนั้นไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

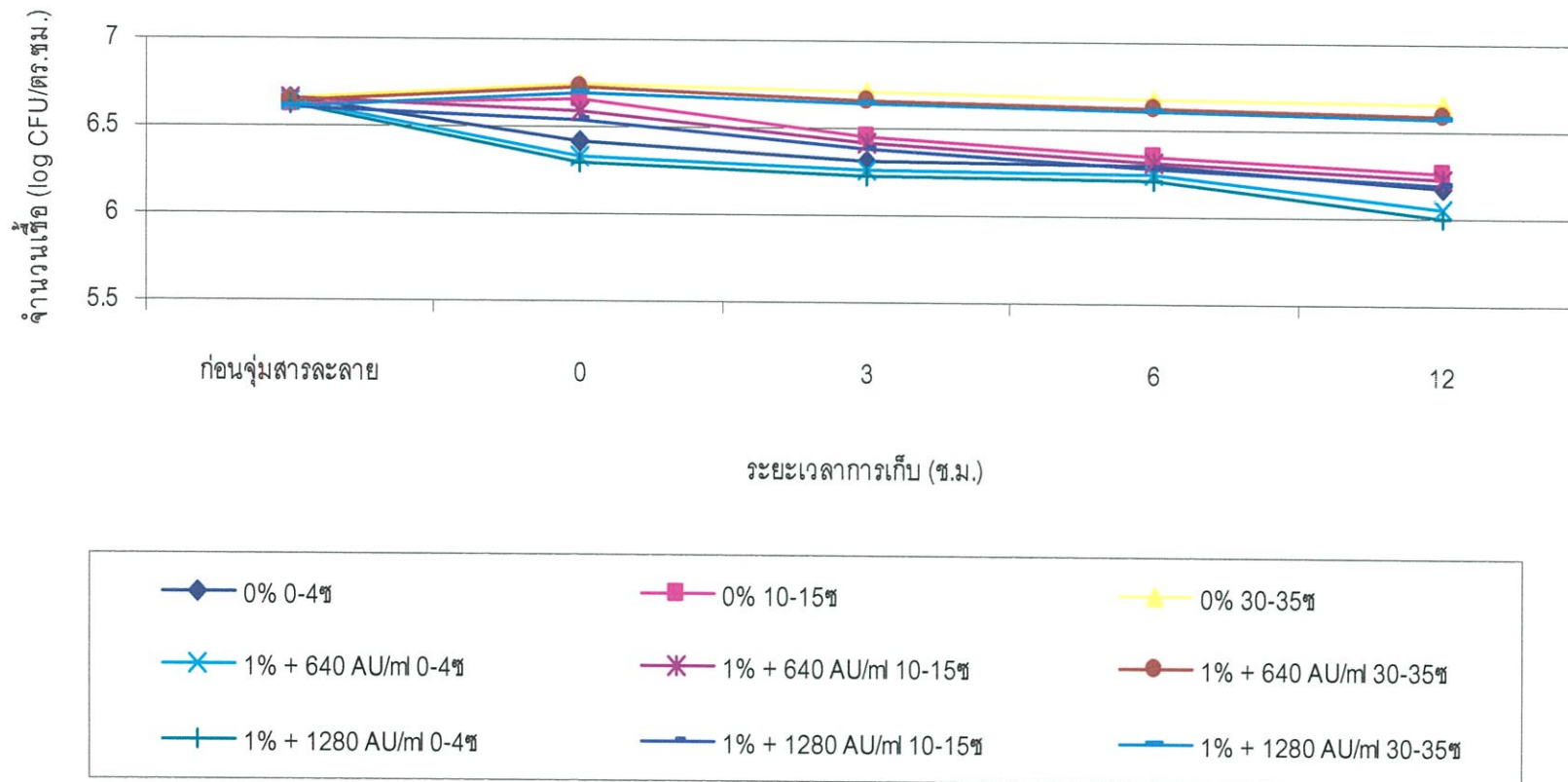
ที่อุณหภูมิการเก็บที่  $30-35^{\circ}\text{C}$  พบว่า นับตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0, 3, 6 และ 12 ของการศึกษาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มสัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ทั้ง 2 ระดับไม่แตกต่างกัน ( $P>0.05$ )

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา  $0 - 4^{\circ}\text{C}$  จะมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์อย่างต่อเนื่อง นับจากชั่วโมงที่ 0, 3, 6 และ 12 ของการเก็บรักษา และการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้นเมื่อใช้สารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 640 AU/ml ทั้งนี้ การเพิ่มระดับความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 1280 AU/ml ไม่ช่วยทำให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ดีขึ้น

ตารางที่ 4.4 แสดงผลของกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสซิน อุณหภูมิ และระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมบนผิวหนังเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

ชั่วโมงที่ทำการศึกษา	ปริมาณจุลินทรีย์บนผิวหนังเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน (log CFU/ตร.ซม.)								
	สารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสซิน								
	0%			1% + pediocin PA – 1 640 AU/ml			1% + pediocin PA – 1 1280 AU/ml		
	อุณหภูมิการเก็บรักษา (°ซ)								
	0-4	10-15	30-35	0-4	10-15	30-35	0-4	10-15	30-35
ก่อนจุ่มสารละลาย	6.65 <sup>น</sup>	6.62 <sup>น</sup>	6.65 <sup>น</sup>	6.63 <sup>น</sup>	6.66 <sup>น</sup>	6.63 <sup>น</sup>	6.62 <sup>น</sup>	6.60 <sup>น</sup>	6.61 <sup>น</sup>
0	6.42 <sup>ล</sup>	6.66 <sup>น</sup>	6.74 <sup>ข</sup>	6.33 <sup>ค</sup>	6.58 <sup>ง</sup>	6.72 <sup>ข</sup>	6.30 <sup>ค</sup>	6.53 <sup>ง</sup>	6.69 <sup>ช</sup>
3	6.31 <sup>น</sup>	6.45 <sup>ล</sup>	6.70 <sup>ขข</sup>	6.26 <sup>ขค</sup>	6.42 <sup>ล</sup>	6.66 <sup>น</sup>	6.23 <sup>ข</sup>	6.38 <sup>ค</sup>	6.63 <sup>น</sup>
6	6.29 <sup>น</sup>	6.35 <sup>ค</sup>	6.68 <sup>ขข</sup>	6.25 <sup>ขค</sup>	6.31 <sup>น</sup>	6.62 <sup>น</sup>	6.20 <sup>ข</sup>	6.27 <sup>ขค</sup>	6.60 <sup>ง</sup>
12	6.17 <sup>ข</sup>	6.26 <sup>ขค</sup>	6.65 <sup>น</sup>	6.05 <sup>น</sup>	6.22 <sup>ข</sup>	6.59 <sup>ง</sup>	6.00 <sup>น</sup>	6.19 <sup>ข</sup>	6.57 <sup>ง</sup>

<sup>น-ข</sup> อักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01)



ภาพที่ 4.4 แสดงผลของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสซิน อุณหภูมิ และระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมบนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

#### 4.2.2 อิทธิพลของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสินต่อค่า pH ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน

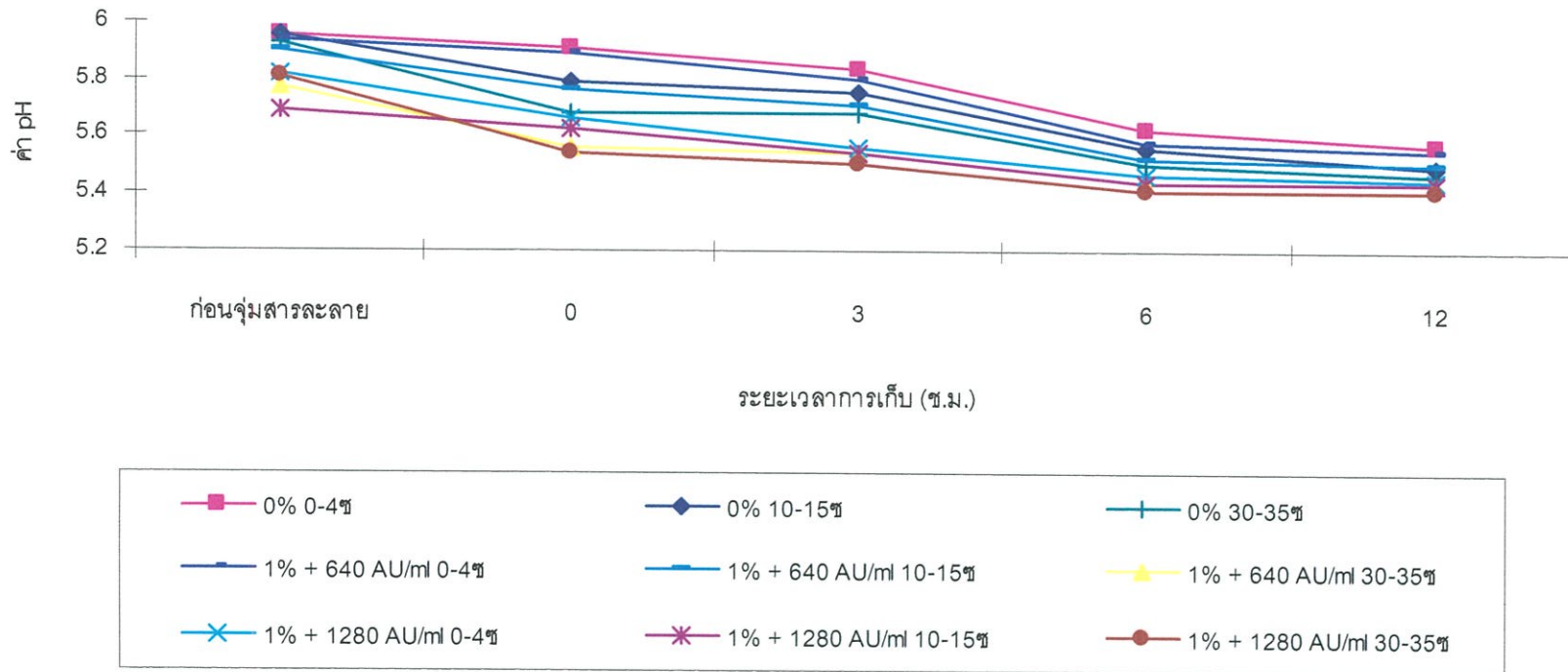
จากตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าค่า pH ในเนื้อสุกรทดลองทุกกลุ่มก่อนเริ่มทำการสัมผัสสารละลายที่ทำการศึกษามีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นกลุ่มที่จัดไว้สำหรับสัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 1280 AU/ml ที่พบว่าค่า pH ต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ภายหลังจากการที่เนื้อสัมผัสกับสารละลายที่ทำการศึกษาและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $0-4^{\circ}\text{C}$  ภายในเวลาไม่เกิน 1 ชั่วโมง (0 ชั่วโมง) จะพบว่ากลุ่มควบคุมที่เนื้อสัมผัสน้ำกลั่น (0%) และกลุ่มที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 ในระดับต่ำ (640 AU/ml) ค่า pH จะยังคงไม่ลดลง แต่พบว่ากลุ่มที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 ในระดับสูง (1280 AU/ml) ลดลงอย่างมาก และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) โดยมีค่า pH เท่ากับ 5.77 ในขณะที่กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 ในระดับต่ำไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.91 และ 5.89 ตามลำดับ ทั้งนี้เมื่อเวลาผ่านไปถึงชั่วโมงที่ 12 ของการเก็บรักษา จะพบว่าค่า pH ในเนื้อลดลงอย่างต่อเนื่องในทุกๆ กลุ่มทดลองที่สัมผัสสารละลาย โดยจะพบว่าที่ชั่วโมงที่ 6 ของการเก็บรักษา เนื้อกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 ทั้งระดับต่ำและระดับสูงจะมีค่า pH ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) โดยมีค่าเท่ากับ 5.58 และ 5.53 ตามลำดับ และที่กลุ่มใช้ pediocin PA - 1 ในระดับสูงที่สุดจะมีค่า pH ต่ำกว่าเนื้อกลุ่มควบคุม ( $P < 0.05$ ) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.62

ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า การใช้สารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 ในระดับต่ำ (640 AU/ml) การลดลงของค่า pH ในเนื้อไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม (0%) ถ้าเก็บเนื้อที่อุณหภูมิต่ำ ( $0-4^{\circ}\text{C}$  และ  $10-15^{\circ}\text{C}$ ) แต่ถ้าเก็บเนื้อที่อุณหภูมิสูง ( $30-35^{\circ}\text{C}$ ) จะพบว่าค่า pH ลดลงต่ำกว่าการเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่าทั้ง 2 ระดับ ทั้งนี้เฉพาะความแตกต่างของค่า pH ระหว่างกลุ่มที่เก็บที่อุณหภูมิสูงสุด ( $30-35^{\circ}\text{C}$ ) และอุณหภูมิต่ำสุด ( $0-4^{\circ}\text{C}$ ) เท่านั้นที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) โดยมีค่าเท่ากับ 5.63 และ 5.80 ที่ชั่วโมงที่ 3 ของการเก็บ แต่การใช้สารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 ในระดับสูง (1280 AU/ml) พบว่า ค่า pH ในเนื้อที่ทุกระดับอุณหภูมิของการเก็บจะมีค่า pH ไม่แตกต่างกับเมื่อระยะเวลาการเก็บผ่านไปถึงชั่วโมงที่ 3 แสดงให้เห็นว่า อิทธิพลของสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 ในระดับสูงจะมีผลต่อการลดลงของค่า pH ในเนื้อมาก ซึ่งมีผลทำให้อุณหภูมิการเก็บเนื้อที่ต่ำกว่าไม่สามารถชะลอการลดลงของค่า pH ได้ แต่ถ้าใช้สารละลายกรดแลคติก 1% และ pediocin PA - 1 ในระดับที่ต่ำกว่า อุณหภูมิการเก็บจะเป็นตัวช่วยชะลอการลดลงของค่า pH ในเนื้อได้

ตารางที่ 4.5 แสดงผลของกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโพรซิออน อุณหภูมิ และระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่า pH ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

ชั่วโมงที่ทำการศึกษา	ค่า pH ของเนื้อสุกร								
	สารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโพรซิออน								
	0%			1% + pediocin PA – 1 640 AU/ml			1% + pediocin PA – 1 1280 AU/ml		
	อุณหภูมิการเก็บรักษา (°ซ)								
	0-4	10-15	30-35	0-4	10-15	30-35	0-4	10-15	30-35
ก่อนทำการจุ่มสารละลาย	5.95 <sup>ก</sup>	5.95 <sup>ก</sup>	5.93 <sup>ก</sup>	5.94 <sup>ก</sup>	5.90 <sup>ก</sup>	5.91 <sup>ก</sup>	5.97 <sup>ก</sup>	5.81 <sup>ก</sup>	5.96 <sup>ก</sup>
0	5.91 <sup>ก</sup>	5.79 <sup>ก</sup>	5.68 <sup>ข</sup>	5.89 <sup>ง</sup>	5.76 <sup>ก</sup>	5.65 <sup>ข</sup>	5.77 <sup>ก</sup>	5.73 <sup>ข</sup>	5.62 <sup>ข</sup>
3	5.83 <sup>ก</sup>	5.75 <sup>ก</sup>	5.68 <sup>ข</sup>	5.80 <sup>ก</sup>	5.71 <sup>ข</sup>	5.63 <sup>ข</sup>	5.65 <sup>ข</sup>	5.62 <sup>ข</sup>	5.58 <sup>ข</sup>
6	5.62 <sup>ข</sup>	5.56 <sup>ข</sup>	5.50 <sup>ก</sup>	5.58 <sup>ข</sup>	5.52 <sup>ก</sup>	5.50 <sup>ก</sup>	5.53 <sup>ก</sup>	5.50 <sup>ก</sup>	5.47 <sup>ก</sup>
12	5.57 <sup>ข</sup>	5.49 <sup>ก</sup>	5.47 <sup>ก</sup>	5.55 <sup>ข</sup>	5.50 <sup>ก</sup>	5.50 <sup>ก</sup>	5.51 <sup>ก</sup>	5.50 <sup>ก</sup>	5.46 <sup>ก</sup>

<sup>ก-ง</sup> อักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )



ภาพที่ 4.5 แสดงผลของกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสติน อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่า pH ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

#### 4.2.3 อิทธิพลของกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสินต่อค่าสีของเนื้อสุกร ( $L^*$ ) จากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่างกัน

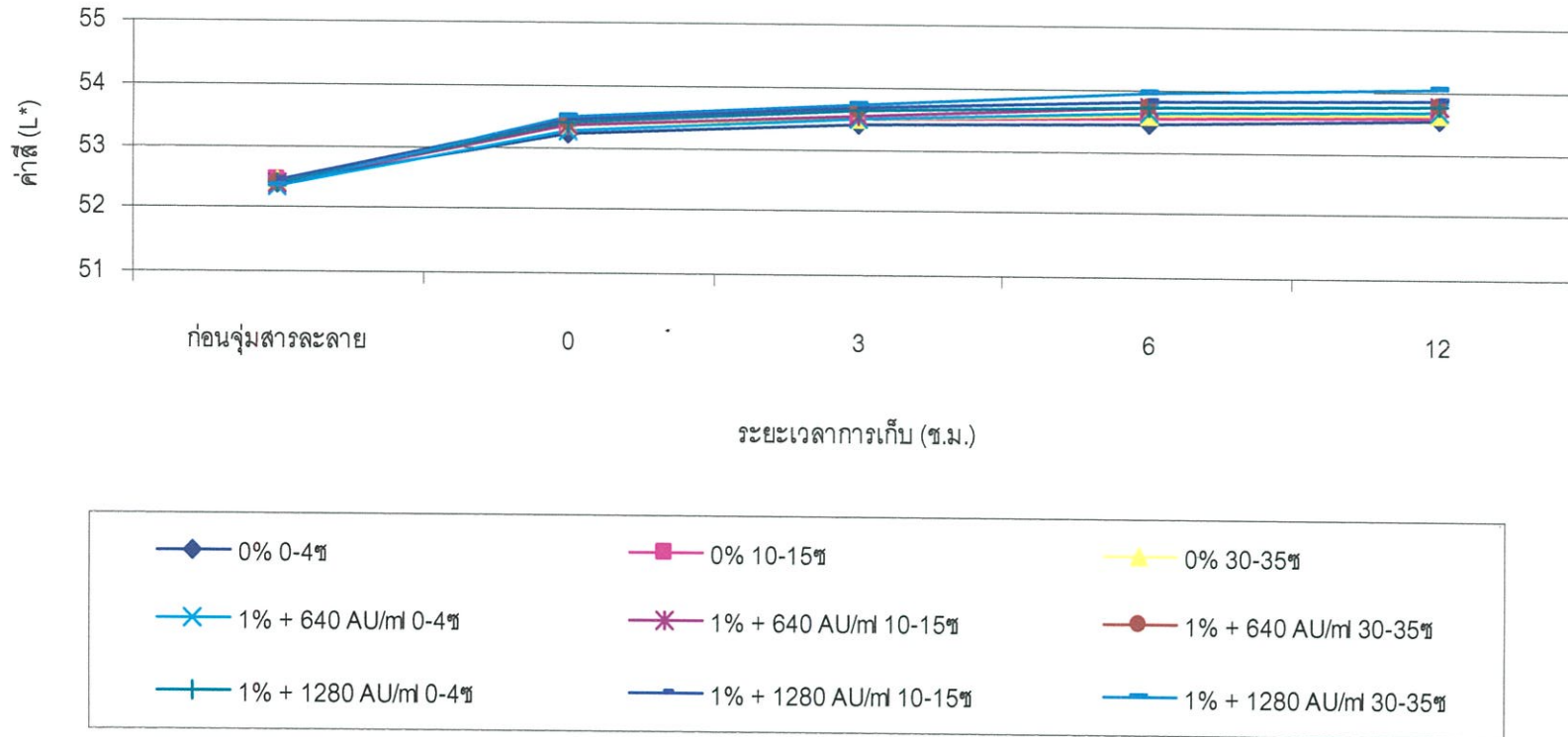
จากตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.6 แสดงให้เห็นถึงสีของเนื้อที่ทำการศึกษา ก่อนสัมผัสสารละลาย เนื้อจะมีสีเข้มหรือมีค่าสี ( $L^*$ ) ต่ำ ภายหลังจากการที่เนื้อสัมผัสกับสารละลายที่ทำการศึกษาจะพบว่า เนื้อจะมีสีซีดลง หรือมีค่าสีสูงกว่ากลุ่มตัวอย่างก่อนสัมผัสสารละลายที่ทำการศึกษา แม้จะเป็นตัวอย่างจากกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ใช้สารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 (กลุ่ม 0%) และค่าสีของเนื้อทุกกลุ่มที่ทำการศึกษาจะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเมื่ออายุของการเก็บรักษาเนื้อมานานขึ้น ทั้งนี้ค่าสีของเนื้อที่เพิ่มขึ้นในกลุ่มที่มีการสัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 ที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง ( $30 - 35^{\circ}\text{C}$ ) ค่าสีของเนื้อจะสูงกว่า หรือเนื้อมีสีซีดกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ในทันทีที่เนื้อสัมผัสกับสารละลายที่ทำการศึกษาทดสอบที่ชั่วโมงที่ 0 ของการศึกษา โดยจะมีค่าเท่ากับ 53.40 และ 53.50 ในกลุ่มที่มีการใช้สารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 ที่ระดับ 640 และ 1280 AU/ml ตามลำดับ ทั้งนี้ความแตกต่างระหว่างกลุ่มทั้ง 2 นี้มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การใช้ pediocin PA - 1 ในระดับที่สูงขึ้น จะมีผลต่อค่าสีของเนื้อที่เพิ่มมากขึ้นที่อุณหภูมิของการเก็บรักษาเนื้อที่สูง ( $30 - 35^{\circ}\text{C}$ ) แต่การเก็บเนื้อที่อุณหภูมิต่ำ ( $0 - 4^{\circ}\text{C}$ ) จะไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่าสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) กลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ใช้สารละลายน้ำกลั่นเพียงอย่างเดียว พบว่า การเก็บเนื้อที่อุณหภูมิสูงขึ้นจะเริ่มมีผลทำให้เนื้อมีสีซีดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บถึงชั่วโมงที่ 3 โดยจะพบว่า การเก็บเนื้อที่อุณหภูมิสูง ( $30 - 35^{\circ}\text{C}$ ) ค่าสีของเนื้อจะสูงที่สุด (53.50) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่าทั้ง 2 กลุ่ม ซึ่งกลุ่มที่เก็บที่อุณหภูมิ  $10 - 15^{\circ}\text{C}$  และกลุ่มที่เก็บที่อุณหภูมิ  $0 - 4^{\circ}\text{C}$  พบว่า ค่าสีของเนื้อไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แสดงว่าอุณหภูมิของการเก็บเนื้อที่สูงขึ้นมีส่วนทำให้ค่าสีของเนื้อเพิ่มสูงขึ้น และการใช้สารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 จะมีส่วนช่วยทำให้ค่าสีของเนื้อเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้ การใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 ที่จะทำให้สีของเนื้อไม่เปลี่ยนแปลงอยู่ที่ระดับความเข้มข้น 640 AU/ml และอุณหภูมิในการเก็บสูงได้ถึง  $10 - 15^{\circ}\text{C}$

ตารางที่ 4.6 แสดงผลของกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสลิน อุณหภูมิ และระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่าสีของเนื้อ (L\*) ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่

มาตรฐาน

ชั่วโมงที่ทำการศึกษา	ค่าความสว่างของสีเนื้อ (L*)								
	สารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสลิน								
	0%			1% + pediocin PA – 1 640 AU/ml			1% + pediocin PA – 1 1280 AU/ml		
	อุณหภูมิการเก็บรักษา (°ซ)								
	0-4	10-15	30-35	0-4	10-15	30-35	0-4	10-15	30-35
ก่อนจุ่มสารละลาย	52.37 <sup>ก</sup>	52.41 <sup>ก</sup>	52.42 <sup>ก</sup>	52.35 <sup>ก</sup>	52.40 <sup>ก</sup>	52.38 <sup>ก</sup>	52.36 <sup>ก</sup>	52.41 <sup>ก</sup>	52.35 <sup>ก</sup>
0	53.22 <sup>ข</sup>	53.34 <sup>ข</sup>	53.35 <sup>ข</sup>	53.24 <sup>ข</sup>	53.36 <sup>ขค</sup>	53.40 <sup>ก</sup>	53.40 <sup>ขค</sup>	53.43 <sup>ขค</sup>	53.50 <sup>ง</sup>
3	53.40 <sup>ค</sup>	53.46 <sup>คข</sup>	53.50 <sup>ง</sup>	53.47 <sup>คข</sup>	53.51 <sup>ง</sup>	53.58 <sup>งค</sup>	53.61 <sup>งค</sup>	53.66 <sup>ง</sup>	53.71 <sup>งค</sup>
6	53.45 <sup>คข</sup>	53.52 <sup>ง</sup>	53.57 <sup>งค</sup>	53.62 <sup>งค</sup>	53.71 <sup>งค</sup>	53.79 <sup>ง</sup>	53.72 <sup>งค</sup>	53.79 <sup>ง</sup>	53.92 <sup>ขข</sup>
12	53.52 <sup>ง</sup>	53.56 <sup>งค</sup>	53.64 <sup>งค</sup>	53.65 <sup>ง</sup>	53.74 <sup>งค</sup>	53.81 <sup>งคข</sup>	53.77 <sup>ง</sup>	53.85 <sup>ข</sup>	54.03 <sup>ข</sup>

<sup>ก-ข</sup> อักษรที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 4.6 แสดงผลของกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสติน อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อค่าสี (L\*) ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

### 4.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาผลของการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสตินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่มาจากชิ้นส่วนใหญ่ต่างกัน

จากการทดลองใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสติน 3 ระดับ คือ 0%, 1% กรดแลคติก ร่วมกับ pediocin PA – 1 640 AU/ml และ 1% กรดแลคติกพร้อมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml เพื่อลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสุกร 3 ชนิด คือ สันคอ (Boston shoulder) สันนอก (Loin) และสามชั้น (Belly) เพื่อศึกษาถึงอิทธิพลของกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสตินต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ค่า pH และสีเนื้อ (L\*) ผลการทดลองเป็นดังนี้

#### 4.3.1 อิทธิพลของกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสตินต่อปริมาณจุลินทรีย์บนชิ้นส่วนเนื้อต่างกัน

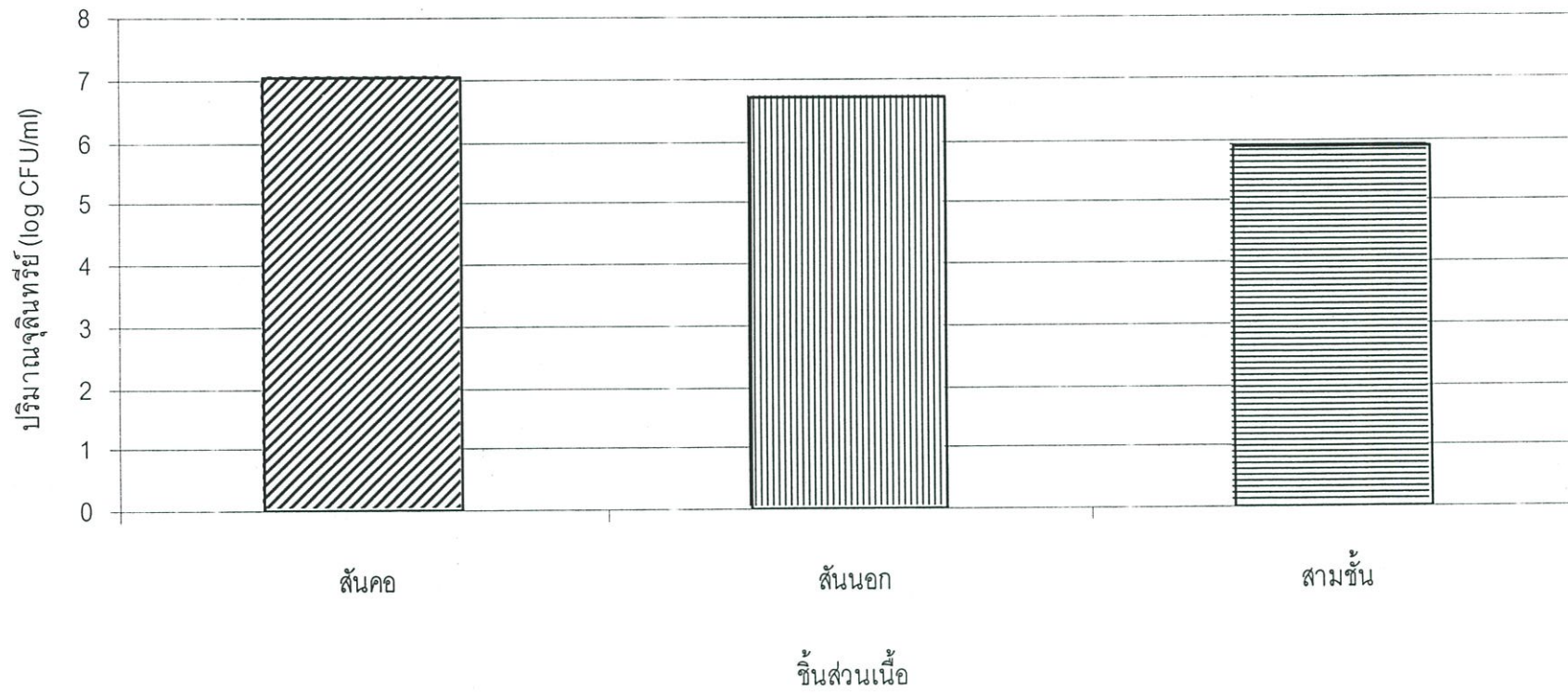
จากการตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อก่อนการสัมผัสสารละลายพบว่า บนผิวเนื้อสุกรส่วนสันคอกมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุด คือ 7.05 log CFU/ตร.ซม. ส่วนเนื้อที่มีปริมาณจุลินทรีย์รองลงมาคือ สันนอกและสามชั้น โดยมีค่าเท่ากับ 6.69 log CFU/ตร.ซม. และ 5.87log CFU/ตร.ซม. ตามลำดับ ( $P < 0.01$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 แสดงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อชิ้นส่วนต่างๆ ก่อนการสัมผัสสารละลาย

ชิ้นส่วนเนื้อ	ปริมาณจุลินทรีย์ (log CFU/ตร.ซม.)
สันคอ (Boston shoulder)	7.05 <sup>a</sup>
สันนอก (Loin)	6.69 <sup>b</sup>
สามชั้น (Belly)	5.87 <sup>c</sup>

<sup>a-c</sup> อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

ผลจากการทดสอบตัวอย่างเนื้อที่มาจากส่วนสันคอ สันนอก และสามชั้น ภายหลังจากสัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 2 ระดับ และกลุ่มที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก 1% และ pediocin PA – 1 (0%) ซึ่งชิ้นเนื้อจะได้รับการสัมผัสน้ำกลั่น ผลการทดลองในตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.8 แสดงให้เห็นว่า การใช้สารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 จะช่วยลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อในทุกชิ้นส่วนเนื้อเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (0%) ที่ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก 1% และ pediocin PA – 1 ( $P < 0.01$ ) ทั้งนี้ การใช้สารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ระดับความเข้มข้น 640 AU/ml มี



ภาพที่ 4.7 แสดงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อชิ้นส่วนต่างๆ ก่อนการลุ่มสารละลาย

ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ไม่ต่างจากกลุ่มที่ใช้ที่ระดับความเข้มข้น 1280 AU/ml นอกจากนี้ ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าทุกกลุ่มที่ทดลองใช้และไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อของชิ้นส่วนสันคอสูงที่สุด รองลงมา คือ สันนอก และชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อนน้อยที่สุด คือ สามชั้น

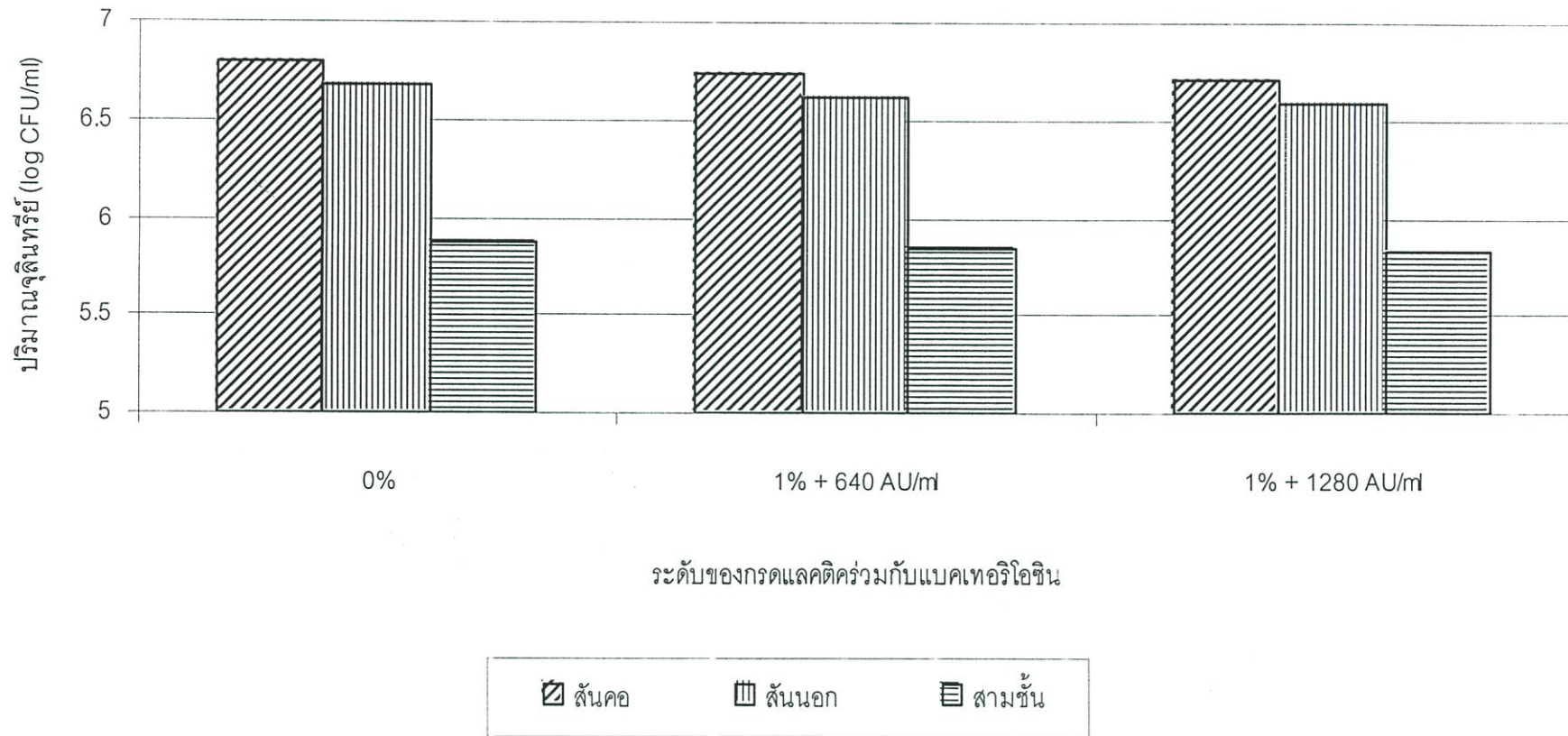
ตารางที่ 4.8 แสดงอิทธิพลร่วมของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสินและเนื้อชิ้นส่วนต่างๆ ต่อปริมาณจุลินทรีย์บนเนื้อสุกร

ชิ้นส่วนเนื้อ	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (log CFU/ตร.ซม.)		
	0 %	1% + pediocin PA – 1 640 AU/ml	1% + pediocin PA – 1 1280 AU/ml
สันคอ	6.80 <sup>a</sup>	6.74 <sup>a</sup>	6.71 <sup>a</sup>
สันนอก	6.67 <sup>a</sup>	6.61 <sup>a</sup>	6.58 <sup>a</sup>
สามชั้น	5.87 <sup>b</sup>	5.85 <sup>b</sup>	5.83 <sup>b</sup>

<sup>a-b</sup> อักษรที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )

#### 4.3.2 อิทธิพลของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสินต่อค่า pH ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่มาจากชิ้นส่วนใหญ่ต่างกัน

ผลการศึกษาดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.9 ซึ่งพบว่าค่า pH ของเนื้อสุกรส่วนสันคอ (Boston shoulder) ในกลุ่มควบคุม กลุ่มผสมกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 640 AU/ml และกลุ่มผสมกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml นั้นมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) คือมีค่าเท่ากับ 5.81 5.78 และ 5.75 ตามลำดับ ส่วนค่า pH ของเนื้อสุกรส่วนสันนอก (Loin) ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มผสมกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 640 AU/ml นั้นมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ซึ่งมีค่า pH เท่ากับ 5.87 และ 5.84 ตามลำดับ แต่ทั้ง 2 กลุ่มมีค่า pH สูงกว่ากลุ่มผสมกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml อย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งมีค่า pH เท่ากับ 5.80 ในขณะที่ค่า pH ของเนื้อสุกรส่วนสามชั้น (Belly) พบว่า ในทั้ง 3 กลุ่มนั้นไม่มีความแตกต่างกัน ( $P > 0.05$ ) และยังพบว่าชิ้นส่วนสันคอของทุกกลุ่มที่ทดลองใช้และไม่ใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 มีค่า pH ต่ำกว่าชิ้นส่วนสามชั้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ยกเว้นกลุ่มที่ใช้สารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml ที่พบว่าค่า pH ไม่ต่างกัน ทั้งนี้ ค่า pH ของเนื้อสันนอกของทุกกลุ่มที่ทดลองใช้และ



ภาพที่ 4.8 แสดงอิทธิพลร่วมของกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียไอซิดินและเนื้อชั้นส่วนต่างๆ ต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสุกร

ไม่ใช้สารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 จะไม่ต่างจากกลุ่มเนื้อสันคอและเนื้อสามชั้น

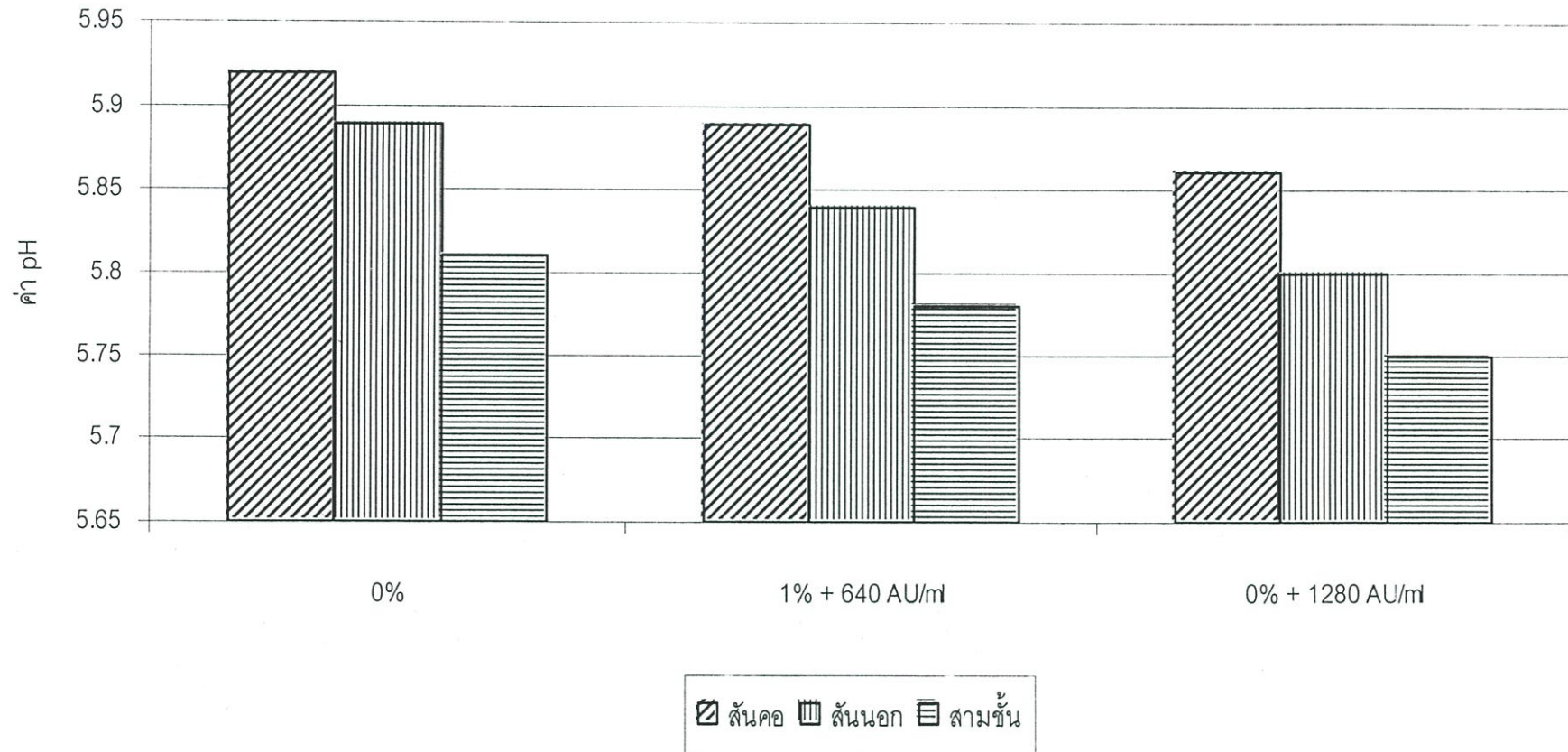
ตารางที่ 4.9 แสดงอิทธิพลร่วมระหว่างกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินและชั้นเนื้อที่มาจากชั้นส่วนต่างกันต่อค่า pH ของเนื้อ

ชั้นส่วนเนื้อ	ค่า pH ของเนื้อส่วนต่างๆ		
	กรดแลคติก + pediocin PA – 1		
	0%	1% + 640 AU/ml	1% + 1280 AU/ml
สันคอ	5.92 <sup>a</sup>	5.89 <sup>a</sup>	5.86 <sup>ab</sup>
สันนอก	5.89 <sup>ab</sup>	5.84 <sup>ab</sup>	5.80 <sup>b</sup>
สามชั้น	5.81 <sup>b</sup>	5.78 <sup>b</sup>	5.75 <sup>b</sup>

<sup>a และ b</sup> อักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

#### 4.3.3 อิทธิพลของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินต่อสีเนื้อ (L\*) ของเนื้อสันนอกสุกรที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

จากการศึกษาพบว่า เนื้อสันนอกก่อนสัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 2 ระดับ และสัมผัสน้ำกลั่น มีค่าสี (L\*) ไม่แตกต่างกัน ( $P > 0.05$ ) เมื่อสัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml มีแนวโน้มที่จะมีสีเนื้อ (L\*) สูงขึ้นไปตามระดับความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 ที่เพิ่มขึ้น คือ ในกลุ่มควบคุม (0%) กลุ่มสัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 640 AU/ml และกลุ่มสัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml มีค่าสีเนื้อเท่ากับ 52.07, 54.11 และ 56.07 ตามลำดับ ซึ่งจะพบว่า กลุ่มสัมผัสกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml มีสีเนื้อมากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มสัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 640 AU/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.10 และภาพที่ 4.10



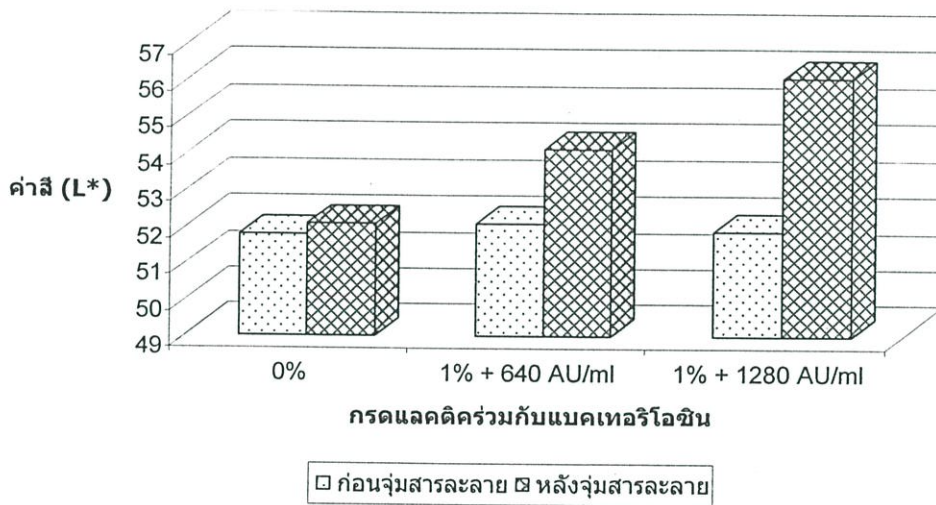
ภาพที่ 4.9 แสดงอิทธิพลร่วมของกรดแลคติกพร้อมกับแคเทอรีโอซินและเนื้อชั้นส่วนต่างๆ ต่อค่า pH ของเนื้อสุกร

ตารางที่ 4.10 แสดงอิทธิพลของกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโชนต่อสีของเนื้อสันนอกสุกร (L\*) ที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

เนื้อสันนอก	ค่าความสว่างของเนื้อ (L*; Lightness)		
	กรดแลคติก + pediocin PA - 1		
	0%	1% + 640 AU/ml	1% + 1280 AU/ml
ก่อนสัมผัสสารละลาย <sup>1/</sup>	51.76	52.09	51.88
หลังสัมผัสสารละลาย	52.07 <sup>a</sup>	54.11 <sup>a</sup>	56.07 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> และ <sup>b</sup> อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

<sup>1/</sup> มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ )



ภาพที่ 4.10 อิทธิพลของกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโชนต่อสีของเนื้อสันนอกสุกร (L\*) จากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

## บทที่ 5

### วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 ผลของการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella Derby* *Salmonella Anatum* และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro test*)

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella Derby* *Salmonella Anatum* และ *Staphylococcus aureus* โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 4 log CFU/ml สาเหตุที่ต้องถ่ายเชื้อเริ่มต้นในระดับนี้เนื่องจากจากรายงานการสำรวจการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในเนื้อไก่และเนื้อหมู ในปี 2540 ของสุมาลี บุญมาและนพรัตน์ หนานริม พบว่าโดยทั่วไปแล้วในเนื้อสัตว์จะมีเชื้อ *Salmonella* เฉลี่ยแล้วประมาณ 4 - 5 log CFU/กรัม ซึ่งจากการศึกษาพบว่า

5.1.1. ผลของกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella Derby* ในหลอดทดลอง (*in vitro test*)

จากการทดลองใช้กรดแลคติก 1% แบคทีเรียโอซิน pediocin PA – 1 และ กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ระดับต่างๆ นั้น พบว่า การใช้ pediocin PA – 1 ร่วมกับกรดแลคติก 1% นั้น สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. Derby* ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ pediocin PA – 1 หรือกรดแลคติก 1% แต่เพียงอย่างเดียว ซึ่งจะเห็นได้ว่าในทันทีที่เชื้อสัมผัสกับสารละลายนั้น การใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ในระดับความเข้มข้นที่สูง คือ 640 และ 1280 AU/ml นั้น จะสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้มากกว่าการใช้กรดแลคติก 1% เพียงอย่างเดียวถึง 0.13 และ 0.16 log CFU/ml ตามลำดับ และลดลงได้มากกว่าการใช้ pediocin PA – 1 ที่ระดับเดียวกันนี้เพียงอย่างเดียวถึง 0.13 และ 0.11 log CFU/ml ตามลำดับ แต่การใช้ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 320 AU/ml พบว่า เชื้อ *S. Derby* จะมีปริมาณลดลงเมื่อเชื้อได้มีเวลาสัมผัสกับสารละลายนาน 6 ชั่วโมง ซึ่งผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับการทดลองของ Cutter *et al.* (1995) ที่ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียโอซินโนซิน (Nisin) ในการลดปริมาณเชื้อ *S. Typhimurium* โดยพบว่าที่ชั่วโมงแรกของการศึกษา เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของโนซินจาก 5000 IU/ml เป็น 10000 IU/ml จะสามารถลดปริมาณเชื้อ *S. Typhimurium* ลงได้ 0.08 log CFU/ml อีกทั้งยังมีแนวโน้มไปในทางเดียวกันกับการทดลองของ Vignalo *et al.* (2000) ที่ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียแลคติก 3 ชนิดในการลดปริมาณ

เชื้อ *Listeria monocytogenes* และ *Listeria innocua* ซึ่งพบว่า การลดลงของเชื้อทั้ง 2 ชนิดจะเป็นไปได้มากขึ้นเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของแบคทีเรียโอสตินทั้ง 3 ชนิดนี้ครั้งละ 1 เท่าตัว และยังจะเห็นได้อีกว่า การใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 เพียงอย่างเดียวนั้น ให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อสูงกว่าการใช้ pediocin PA - 1 เพียงอย่างเดียวซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Garriga *et al.* (1998) ที่ทำการทดลองใช้สารแบคทีเรียโอสตินที่ผลิตจากแบคทีเรียแลคติกจากลำไส้ของไก่มาใช้ในการลดปริมาณเชื้อ *S. Typhimurium* และ *S. Enteritidis* ในหลอดทดลองโดยใช้ร่วมกับกรดแลคติก 2% พบว่า ปริมาณเชื้อจะสามารถลดลงได้มากกว่า 5 log CFU/ml ตั้งแต่ชั่วโมงแรกของการศึกษา ซึ่งจากการทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า pediocin PA - 1 และกรดแลคติก 1% มีอิทธิพลในการส่งเสริมประสิทธิภาพต่อกัน (synergistic effects) โดยอาจจะไปช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์ของจุลินทรีย์ เนื่องจากแบคทีเรียโอสตินจะไปมีผลทำให้เกิดรูที่เยื่อหุ้มของไซโตพลาสซึม และจากรายงานของ McAuliffe *et al.* (1998) พบว่าการใช้ lacticin 3147 มีผลทำให้เกิดรูที่เยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ  $K^+$  ions และอนินทรีย์ฟอสเฟต และกรดแลคติกจะซึมเข้าไปทำให้เกิดสภาพความเป็นกรดภายในเซลล์ สภาพแวดล้อมจึงไม่เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของเซลล์ (มุสดีดังวัชรินทร์, 2542ข) ในขณะที่การใช้สารอนินทรีย์บางชนิดก็สามารถทำให้เกิด synergistic effects กับแบคทีเรียโอสตินได้เช่นกัน ดังการทดลองของ Ogunbanwo *et al.* (2003) ที่ใช้สารแบคทีเรียโอสตินจากเชื้อ *Lactobacillus brevis* OG1 ร่วมกับโซเดียมฟอสเฟต และไตรโซเดียมฟอสเฟต พบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้ดีขึ้น แต่การใช้กรดแลคติก 1% เพียงอย่างเดียวไม่มีผลในการลดเชื้อ *S. Derby* ถึงแม้ว่าจะปล่อยให้เชื้อสัมผัสกับสารละลายนานถึง 30 ชั่วโมงก็ตาม ซึ่งสอดคล้องกันกับการทดลองของคมแห พิลาสสมบัติ (2540) ที่พบว่าการใช้กรดแลคติก 1% จะให้ประสิทธิภาพในการลดเชื้อ *S. Derby* น้อยกว่าการใช้ที่ระดับ 2 และ 3% โดยพบว่าการใช้ที่ระดับ 1% จะตรวจไม่พบเชื้อเมื่อผ่านไปถึง 48 ชั่วโมง ในขณะที่การใช้ที่ระดับ 3% จะตรวจไม่พบเชื้อตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0

### 5.1.2 ผลของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสตินต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella Anatum* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

จากการทดลองใช้กรดแลคติก 1% แบคทีเรียโอสติน pediocin PA - 1 และ กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 ระดับต่างๆ นั้น พบว่า การใช้ pediocin PA - 1 ร่วมกับกรดแลคติก 1% ให้ผลในการลดปริมาณเชื้อ *S. Anatum* ไม่แตกต่างจากการใช้ pediocin PA - 1 หรือกรดแลคติก 1% เพียงอย่างเดียว และพบว่า การใช้ pediocin PA - 1 ในระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น คือ 640 และ 1280 AU/ml นั้นจะสามารถลดปริมาณเชื้อ *S. Anatum* ได้มากขึ้นซึ่งสอดคล้องกับการ

ทดลองของ Cutter et al. (1995) เช่นเดียวกัน แต่จากการทดลองนี้พบว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณเชื้อที่ระดับความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 สูงแล้วพบว่าไม่แตกต่างกัน และยังพบอีกว่า การใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ระดับความเข้มข้นสูงก็ไม่มีผลทำให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อดีขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่า กรดแลคติก 1% และ pediocin PA – 1 ไม่มี synergistic effects ต่อกันในการยับยั้งเชื้อ *S. Anatum* สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อ *S. Anatum* มีความไว (Sensitivity) กับ pediocin PA – 1 ได้น้อยกว่าเชื้อ *S. Anatum* ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Shah et al. (2001) ที่ทดลองใช้สารแบคทีเรียโอซินในการลดปริมาณเชื้อ *S. Enterica* และ *S. Gallinary* จากลำไส้เล็กของไก่ พบว่า เชื้อ *S. Gallinary* มีความไวกว่าต่อแบคทีเรียโอซินมากกว่า *S. Enterica* อย่างเห็นได้ชัด และจากการทดลองของ Bromberg et al. (2004) ที่ใช้สารแบคทีเรียโอซินที่ได้จากแบคทีเรียแลคติกจากเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อในการลดปริมาณเชื้อ *Listeria* 2 ชนิดก็พบว่า เชื้อทั้ง 2 มีความไวต่อแบคทีเรียโอซินต่างกัน อย่างไรก็ตาม พบว่ากรดแลคติก 1% สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. Anatum* ได้ใกล้เคียงกับการใช้ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 320 AU/ml เพียงอย่างเดียว แสดงให้เห็นว่าการใช้ pediocin PA – 1 ที่ระดับนี้สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. Anatum* ได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อ *S. Derby*

### 5.1.3 ผลของกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินต่อการลดปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

จากการทดลองใช้กรดแลคติก 1% แบคทีเรียโอซิน pediocin PA – 1 และ กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ระดับต่างๆ นั้น พบว่า การใช้กรดแลคติก 1% เพียงอย่างเดียว สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ pediocin PA – 1 แต่เพียงอย่างเดียว สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องจาก Swetwivathana and Lotong (1999) รายงานไว้ว่า pediocin PA – 1 ที่ผลิตได้จาก *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 นี้ จะมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวกแต่จะไม่ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Schillinger and Lucke (1989) ที่ทดลองใช้แบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากเชื้อ *Lactobacillus sake* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ซึ่งก็พบว่าแบคทีเรียโอซินไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้เช่นกัน แต่เมื่อได้ทำการทดลองต่อโดยใช้กรดอินทรีย์บางชนิดร่วมกับแบคทีเรียโอซิน พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Helander et al. (1997) และ Swetwivathana et al. (2001) และยังคงสอดคล้องกับการทดลองของ Dimitriva – moats et al. (2004) ที่ได้ทดลองใช้ในเชื้อที่ผลิตจากเชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 1154 ในการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* และ *Listeria monocytogenes* พบว่า ที่ช่วงโมเมนต์แรกของการทดลองปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในหลอดทดลองไม่พบการลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อ *Listeria monocytogenes* เช่นเดียวกัน และการใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 320 AU/ml

พบว่า ไม่ทำให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* สูงขึ้น แต่จะพบว่า การใช้ pediocin PA - 1 ที่ระดับสูงขึ้นคือ 640 และ 1280 AU/ml ร่วมกับกรดแลคติก 1% มีผลให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ดีขึ้น แสดงให้เห็นว่า กรดแลคติก 1% และ pediocin PA - 1 จะแสดงอิทธิพลในการส่งเสริมประสิทธิภาพต่อกัน (synergistic effects) ในการลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับความเข้มข้นของ pediocin PA - 1 สูง นอกจากนี้ กรดแลคติก 1% สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ได้ 0.11 log CFU/ml ในชั่วโมงที่ 24 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของคมแข พิลาสมบัติ (2542) ที่พบว่า การใช้กรดแลคติก 1% สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. aureus* ที่ชั่วโมงที่ 24 ของการศึกษาถึง 0.49 log CFU/ml โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นอยู่ที่ 8 log CFU/ml ในขณะที่การทดลองนี้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นอยู่ที่ 4 log CFU/ml ซึ่งประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ นั้นก็ขึ้นอยู่กับปริมาณเชื้อเริ่มต้น หากมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นมากก็จะเห็นประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อได้มากกว่า

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษาคั้งนี้เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสาธารณสุขของโรงฆ่าสัตว์และโรงงานผลิตอาหาร รวมถึงซากสัตว์ ที่ใช้เป็นวัตถุดิบอาหาร ก่อให้เกิดโรคที่เกี่ยวกับทางเดินอาหาร จากการทดลองของ Sue et al. (1989) ที่ทำการสกัดสารแบคทีเรียโอสินจากเชื้อ *Lactococcus lactis* และ *Pediococcus pentosaceus* เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดเช่น *Clostridium Perfringens*, *S. aureus*, *E. coli* O157:H7 และ *Salmonella* spp. พบว่า สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ แต่จะไม่สามารถยับยั้งแกรมลบบางชนิดได้

## 5.2 ผลของการใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน ค่า pH และค่าความสว่างของสีเนื้อ (L\*) ที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน

### 5.2.1 ผลของการใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน

ผลการศึกษาอิทธิพลของสารละลายกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสินและอุณหภูมิการเก็บต่อปริมาณจุลินทรีย์บนผิวเนื้อ พบว่า การเก็บเนื้อที่อุณหภูมิ 0 - 4°C นั้นพบว่าจะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์บนผิวเนื้อต่ำที่สุดแม้ในกลุ่มควบคุมที่ไม่ใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสินในทุกชั่วโมงของการศึกษา เนื่องจากความเย็นจะเป็นตัวชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด มีผลทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ โดยจะช่วยขยายเวลาระยะ lag phase ให้นานขึ้นไปอีก สอดคล้องกับรายงานของ Marshall (1996) ที่พบว่า

เมื่อทำการลดอุณหภูมิลงทุก  $10^{\circ}\text{C}$  จะมีผลในการยืดระยะ lag phase ของจุลินทรีย์ และเมื่ออุณหภูมิลดต่ำลงจนต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง ก็กิจกรรมภายในเซลล์ของจุลินทรีย์จะไม่สามารถทำงานได้ ผลการทดลองใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 จากการศึกษาจะเห็นได้ว่า การเก็บเนื้อที่อุณหภูมิ  $10-15^{\circ}\text{C}$  จะสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ลงได้มากกว่ากลุ่มควบคุมเมื่อใช้ pediocin PA – 1 ในระดับความเข้มข้นสูง (1280 AU/ml) โดยในกลุ่มควบคุมภายในชั่วโมงแรก (0 ชั่วโมง) ของการศึกษานี้จะพบว่า เนื้อกลุ่มควบคุมที่อุณหภูมิ ( $10-15^{\circ}\text{C}$ ) จะมีปริมาณจุลินทรีย์  $6.66 \log \text{ CFU/ตร.ซม.}$  แต่เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อที่อุณหภูมิเดียวกันที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ในระดับ 640 และ 1280 AU/ml จะพบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์น้อยกว่าโดยมีค่าเท่ากับ 6.58 และ 6.53  $\log \text{ CFU/ตร.ซม.}$  ตามลำดับ แต่เมื่อผ่านชั่วโมงแรกของการเก็บรักษา จะพบว่ากรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 จะลดปริมาณเชื้อต่อไปไม่ได้ ในขณะที่กลุ่มควบคุม (สัมผัสน้ำกลั่น) จะสามารถควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ให้คงที่ได้จนถึงชั่วโมงที่ 12 ที่อุณหภูมิ  $30-35^{\circ}\text{C}$  ซึ่งการทดลองของมูลนิธิ ดั่งวัชรินทร์ (2542) พบว่าเนื้อในกลุ่มควบคุมที่สัมผัสน้ำกลั่นสามารถควบคุมปริมาณเชื้อ *S. Derby* ไว้ได้นาน 5 วัน ที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  ทั้งนี้งานวิจัยของ Rozum and Murer (1997) ที่ได้ทำการทดลองพ่นสารละลายแบคทีเรียโอสลินลงบนเนื้ออกไก่แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารละลายแบคทีเรียโอสลินมากขึ้น จะช่วยยืดระยะเวลาการเก็บรักษาเนื้อออกไปได้นานขึ้นเมื่อเก็บเนื้อที่อุณหภูมิสูง ( $27-30^{\circ}\text{C}$ ) ประสิทธิภาพของกรดแลคติกร่วมกับ pediocin PA – 1 ช่วยลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้จริงในการทดลองแบบ *in vitro test* แต่เมื่อนำมาประยุกต์ใช้บนเนื้อสุกร พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งไม่ดีเท่ากับการทดลองในหลอดทดลอง ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าในขณะที่จุ่มตัวอย่างเนื้อลงในสารละลายนั้น โปรตีนและไขมันที่มีอยู่ในเนื้ออาจจะเป็นตัวกักจับสารละลายเอาไว้ ทำให้สารละลายไม่สามารถแสดงประสิทธิภาพในการลดเชื้อได้อย่างเต็มที่ ซึ่งต่างจากการทดลองในหลอดทดลอง (ชลัท ศานติวงศานา . 2542)

### 5.2.2 ผลของการใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสลินต่อค่า pH ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน

ผลการศึกษาอิทธิพลของสารละลายกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสลิน และอุณหภูมิการเก็บต่อค่า pH ของเนื้อ พบว่า เมื่ออุณหภูมิการเก็บเนื้อสูงขึ้นมีผลทำให้ค่า pH ของเนื้อในกลุ่มควบคุมนั้นมีค่าต่ำลงไปตามช่วงเวลาที่ทำการศึกษา โดยจะพบว่าเนื้อที่เก็บที่อุณหภูมิ  $30-35^{\circ}\text{C}$  นั้นค่า pH จะลดลงจนถึงค่า pH สุดท้ายของเนื้อ (Ultimate pH) ที่ชั่วโมงที่ 6 ของการศึกษา เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงจะไปมีผลในการเร่งกระบวนการไกลโคไลซิสในเนื้อ ทำให้เกิดการขึ้น ค่า pH ของเนื้อจึงลดต่ำลงถึง pH สุดท้ายได้เร็ว ในขณะที่เนื้อในกลุ่มควบคุมที่เก็บที่อุณหภูมิ  $0-4^{\circ}\text{C}$  นั้นจะมีค่า

pH ของเนื้อสูงกว่ากลุ่มที่เก็บที่อุณหภูมิสูงกว่า (10-15 และ 30-35<sup>o</sup>C ตามลำดับ) และเมื่อพิจารณาที่เนื้อในกลุ่มที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติกและแบคทีเรียโอสินทั้งที่ระดับ 640 AU/ml และ 1280 AU/ml จะพบว่า ค่า pH ของเนื้อในทุกอุณหภูมิที่เก็บรักษาจะมีการลดลงของค่า pH ค่อนข้างรวดเร็ว ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่กรดแลคติกและแบคทีเรียโอสินมีความเป็นกรด จึงมีผลช่วยทำให้การลดลงของค่า pH ของเนื้อเร็วขึ้น สอดคล้องกันกับงานวิจัยของ Samelis *et al.* (2001) ที่ทำการทดลองใช้กรดอะซิติกร่วมกับแบคทีเรียโอสินจากเชื้อ *Lactobacillus sake* ในการลดปริมาณเชื้อ *Listeria monocytogenes* บนเนื้อสดพบว่า การใช้กรดอะซิติกร่วมกับแบคทีเรียโอสินในระดับสูงขึ้นไป ส่งผลให้การลดลงของค่า pH ในเนื้อสูงกว่ากลุ่มควบคุม ส่วนอีกเหตุผลหนึ่งก็อาจเนื่องมาจากตัวอย่างเนื้อที่ใช้ในการศึกษาเป็นเนื้อที่นำมาจากตลาดสด เนื้อที่ไม่ผ่านกระบวนการลดอุณหภูมิภายหลังกระบวนการฆ่าจนถึงการจำหน่าย จึงทำให้ค่า pH ในเนื้อถึงจุด ultimate pH ได้เร็ว

### 5.2.3 ผลของการใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสินต่อค่าสีเนื้อสุกร (L\*) จากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิการเก็บต่างกัน

ผลการศึกษาอิทธิพลของสารละลายกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสินและอุณหภูมิต่อค่าความสว่างของสีเนื้อ (L\*) พบว่า หลังจากการจุ่มสารละลายทั้ง 3 ระดับแล้ว พบว่าตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ของการศึกษาจะเห็นได้ว่า ค่าความสว่างของสีเนื้อจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกและแบคทีเรียโอสินเพิ่มขึ้น และค่าความสว่างของสีเนื้อจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิการเก็บเนื้อเพิ่มสูงขึ้นด้วย ซึ่งจะเห็นได้ว่า เนื้อที่เก็บที่อุณหภูมิสูง (30-35<sup>o</sup>C) จะมีค่าความสว่างของสีเนื้อสูงกว่าเนื้อที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำ (0-4<sup>o</sup>C และ 10-15<sup>o</sup>C) ในทุกระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกและแบคทีเรียโอสิน โดยเฉพาะตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนถึงชั่วโมงที่ 12 ของการศึกษาจะพบว่าเนื้อที่เก็บที่อุณหภูมิ 30-35<sup>o</sup>C ในกลุ่มที่สัมผัสสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 1280 AU/ml นั้นมีค่าความสว่างของสีเนื้อสูงที่สุด (54.03) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Bayles *et al.* (1996) ที่ทดลองใช้กรดอะซิติกร่วมกับไนซินในการลดปริมาณเชื้อ *Listeria monocytogenes* บนเนื้อสัตว์ 2 ชนิด (เนื้อวัวและเนื้อหมู) ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ ซึ่งให้ผลการทดลองคล้ายคลึงกับการทดลองนี้โดยที่ Bayles *et al.* ให้เหตุผลว่า เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะมีผลในการเร่งกระบวนการสลายพลังงานในกล้ามเนื้อ (Glycolysis) ซึ่งจะส่งผลให้เกิดกรดแลคติกขึ้นในเนื้อ ทำให้ค่า pH ของเนื้อลดต่ำลง และมีผลทำให้โปรตีนที่อยู่ในกล้ามเนื้อเกิดการเสื่อมสภาพ ทำให้เนื้อไม่สามารถกักเก็บน้ำเอาไว้ได้ เนื้อจึงมีน้ำซึมออกมาที่ผิวมาก ทำให้ค่าความสว่างของสีเนื้อสูง

### 5.3 ผลของการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวหนังเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน ค่า pH และค่าความสว่างของสีเนื้อ ( $L^*$ ) ที่มาจากชิ้นส่วนใหญ่ต่างกัน

ผลการศึกษาอิทธิพลของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซิน ต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวหนังเนื้อสุกร ที่มาจากชิ้นส่วนต่างกัน พบว่า เนื้อสุกรที่มาจากชิ้นส่วนส่วนสันคอ (Boston Shoulder) มีปริมาณจุลินทรีย์ตั้งต้นสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อที่มาจากส่วนสันนอก (Loin) และสามชั้น (Belly) ซึ่งมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เท่ากับ 7.05, 6.69 และ 5.87 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Michael (1995) ที่กล่าวไว้ว่า ชิ้นส่วนเนื้อสุกรแต่ละชิ้นจะมีปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ไม่เท่ากัน โดยส่วนของสันคอจะมีปริมาณการปนเปื้อนสูงที่สุด เนื่องจากบริเวณนี้เป็นตำแหน่งที่แทงคอเพื่อเอาเลือดออก และเลือดยังเป็นแหล่งอาหารที่ดีของจุลินทรีย์อีกด้วย เมื่อทำการทดสอบกับสารละลายที่ใช้ในการศึกษาทั้ง 3 ระดับ พบว่า ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มที่สัมผัสกับสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินนั้น ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมแต่ก็จะพบว่าการใช้ระดับของแบคทีเรียโอซินสูงขึ้นไปจะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ลดลงเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย (5.53 และ 5.52 log CFU/ตร.ซม.) และเมื่อทำการทดลองกับเนื้อส่วนสันนอก (Loin) และสามชั้น (Belly) ก็พบว่าการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินที่ระดับสูงขึ้นไปก็จะลดปริมาณจุลินทรีย์ลงได้อีกเพียงเล็กน้อยเช่นกัน

ผลการศึกษาอิทธิพลของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินที่มีต่อค่า pH ของเนื้อสุกรที่มาจากชิ้นส่วนต่างกัน พบว่ากล้ามเนื้อสุกรส่วนสันคอที่สัมผัสกับสารละลายน้ำกลั่น จะมีค่าความเป็นกรดสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อที่มาจากส่วนสันนอกและสามชั้น ส่วนเมื่อสัมผัสกับสารละลายกรดแลคติกและแบคทีเรียโอซินจะแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (5.81 5.78 และ 5.75 ตามลำดับ) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ คาร์ เจตยะคามิน (2541) ที่ได้รายงานไว้ว่า กล้ามเนื้อส่วนสันคอของสุกรจะประกอบไปด้วยชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อชนิด red muscle fiber กล้ามเนื้อบริเวณที่ทำงานมากจะมีเส้นเลือดฝอยมาหล่อเลี้ยงมาก ทำให้เกิดปฏิกิริยาสลายพลังงานแบบใช้ออกซิเจนได้มาก โดยกล้ามเนื้อประเภทนี้จะมีค่า pH ค่อนข้างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับกล้ามเนื้อที่เป็นพวก white muscle fiber อย่างเช่น กล้ามเนื้อสันนอกที่จะมีค่า pH ค่อนข้างต่ำกว่า ส่วนเนื้อสามชั้นนั้นที่พบว่าค่า pH ของเนื้อมีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก อาจเป็นเพราะว่าเนื้อส่วนนี้มีชั้นไขมันค่อนข้างมาก ซึ่งไขมันมีคุณสมบัติในการนำไฟฟ้าได้ดี จึงมีค่าค่อนข้างเป็นกลาง การเปลี่ยนแปลงค่า pH จึงไม่มากนัก ภายหลังจากชิ้นเนื้อดังกล่าวสัมผัสกับสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 พบว่ามีผลทำให้ค่า pH ในเนื้อสุกรทุกชิ้นส่วนลดลงเนื่องจากอิทธิพลของกรดแลคติกและ pediocin PA - 1 ซึ่งมีฤทธิ์เป็นกรด

ผลการศึกษาอิทธิพลของสารละลายกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสซินและเนื้อสุกรชิ้นส่วนต่างกันต่อค่าความสว่างของสีเนื้อ ( $L^*$ ) ซึ่งเนื้อในการศึกษานี้วัดค่าสีจากกล้ามเนื้ออกชนิดเดียว พบว่าภายหลังการจุ่มตัวอย่างเนื้อลงในสารละลายทั้ง 3 ระดับแล้วนำชิ้นเนื้อสับนอกไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรดแลคติกและแบคทีเรียโอสซินในระดับสูง (1280 AU/ml) จะทำให้ค่าความสว่างของสีเนื้อสูงที่สุด (56.07) ในกลุ่มที่ใช้กรดแลคติกและแบคทีเรียโอสซินในระดับสูง กลุ่มที่สัมผัสกรดแลคติกและแบคทีเรียโอสซินที่ระดับ 640 AU/ml และกลุ่มที่สัมผัสสารละลายน้ำกลั่นมีค่าเท่ากับ 54.11 และ 52.07 ตามลำดับ ( $P < 0.01$ ) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากการใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอสซิน จะมีผลทำให้เนื้อมีความเป็นกรดมากขึ้น เพราะกรดแลคติกและแบคทีเรียโอสซินมีฤทธิ์เป็นกรด ค่า pH ของเนื้อที่ต่ำกว่ามีผลทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อตัวยกลง ที่ผิวเนื้อมีน้ำซึมออกมามาก ทำให้ค่าความสว่างของสีเนื้อสูงขึ้น (Bayles *et al.* 1996)

## บทที่ 6

# สรุปและข้อเสนอแนะ

### 6.1 สรุป

ในการศึกษาผลของการใช้สารละลายกรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby, *Salmonella* Anatum และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test) ที่ผ่านการถ่ายเชื้อให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 4 log CFU/ml เพื่อทดสอบประสิทธิภาพและหาระดับการใช้งานที่เหมาะสมที่สุดในการลดปริมาณเชื้อที่ทำการศึกษาทั้ง 3 ชนิด โดยที่เชื้อทั้ง 3 ชนิดนั้นมีความสำคัญเกี่ยวข้องกับความปลอดภัยทางด้านอาหาร ซึ่งผลการศึกษาจะใช้เป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ลดการปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ต่อไป

ผลการศึกษานั้นสรุปได้ว่า การใช้กรดแลคติก 1% เพียงอย่างเดียวนั้นไม่ทำให้ปริมาณเชื้อ *S. Derby* ลดลงได้มากขึ้น ส่วนการใช้ pediocin PA – 1 เพียงอย่างเดียวนั้นจะต้องใช้ที่ระดับความเข้มข้น 640 AU/ml ขึ้นไปจึงจะให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์สูงขึ้น หรือหากใช้ที่ระดับต่ำกว่านั้น (320 AU/ml) จะต้องปล่อยให้เชื้อสัมผัสสารละลายนานถึง 12 ชั่วโมงก่อน แต่ถ้าใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 แล้ว จะพบว่าประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ *S. Derby* เพิ่มสูงขึ้นมากเนื่องจาก synergistic effects ระหว่างกรดแลคติกและ pediocin PA – 1 แต่เมื่อพิจารณาถึงประสิทธิภาพของกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ในการลดปริมาณเชื้อ *S. Anatum* พบว่ามีประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากการใช้กรดแลคติก 1% หรือ pediocin PA – 1 เพียงอย่างเดียว ซึ่งแสดงให้เห็นว่า กรดแลคติกและ pediocin PA – 1 ไม่เกิด synergistic effects ต่อกันในการลดเชื้อ *S. Anatum* โดยที่การใช้กรดแลคติก 1% เพียงอย่างเดียวจะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อนี้ที่ชั่วโมงที่ 12 ส่วนการใช้ pediocin PA – 1 ที่ระดับ 320 AU/ml จะลดปริมาณเชื้อได้ที่ชั่วโมงที่ 6 และจะลดปริมาณได้มากขึ้นหากเพิ่มความเข้มข้นของ pediocin PA – 1 เป็น 640 และ 1280 AU/ml ซึ่งแสดงให้เห็นว่า pediocin PA – 1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *S. Anatum* ได้ดีกว่ากรดแลคติก 1% ในขณะที่ synergistic effects ระหว่างกรดแลคติกและ pediocin PA – 1 ในการลดเชื้อ *S. aureus* นั้น พบว่าจะเกิดขึ้นได้เมื่อใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 ที่ความเข้มข้นสูง แต่เมื่อเปรียบเทียบการใช้ร่วมกันระหว่างที่ระดับ 640 และ 1280 AU/ml ก็พบว่าไม่แตกต่างกัน

การใช้กรดแลคติก 1% เพียงอย่างเดียวพบว่ามีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ pediocin PA – 1 320 AU/ml ในทันทีที่สัมผัสกับสารละลาย ส่วนการศึกษามาผลของการใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโอซินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐานที่อุณหภูมิต่ำ

การเก็บต่างกัน พบว่าการเก็บเนื้อที่อุณหภูมิ 0 - 4°C นั้นจะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์บนผิวเนื้อต่ำที่สุดแม้ในกลุ่มควบคุมที่ไม่ใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินในทุกชั่วโมงของการศึกษา เนื่องจากความเย็นจะเป็นตัวชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด ส่วนใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 จะเห็นได้ว่าการเก็บเนื้อที่อุณหภูมิ 10-15°C จะสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ลงได้มากกว่ากลุ่มควบคุมเมื่อใช้ pediocin PA - 1 ในระดับความเข้มข้นสูง (1280 AU/ml) ในชั่วโมงแรกของการศึกษาแต่เมื่อผ่านชั่วโมงแรกของการเก็บรักษา จะพบว่ากรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 จะลดปริมาณเชื้อต่อไปไม่ได้ ในขณะที่กลุ่มควบคุม (สั้มีผลน้ำกลั่น) จะสามารถควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ให้คงที่ได้จนถึงชั่วโมงที่ 12 ที่อุณหภูมิ 30-35°C และพบว่า เมื่ออุณหภูมิการเก็บเนื้อสูงขึ้นมีผลทำให้ค่า pH ของเนื้อในกลุ่มควบคุมนั้นมีค่าต่ำลงไปตามเวลาที่ทำการศึกษา ทั้งนี้เนื้อที่เก็บที่อุณหภูมิ 30-35°C นั้นค่า pH จะลดลงจนถึงค่า pH สุดท้ายของเนื้อ (Ultimate pH) ที่ชั่วโมงที่ 6 ของการศึกษา ส่วนเนื้อในกลุ่มที่สั้มีผลสารละลายกรดแลคติกและpediocin PA - 1 ทั้งที่ระดับ 640 AU/ml และ 1280 AU/ml จะพบว่า ค่า pH ของเนื้อในทุกอุณหภูมิที่เก็บรักษาจะมีการลดลงของค่า pH ค่อนข้างรวดเร็ว และค่าความสว่างของสีเนื้อจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับ pediocin PA - 1 และอุณหภูมิการเก็บเนื้อเพิ่มสูงขึ้นด้วย การใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 ช่วยลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ดีพบสมควรเมื่อเชื้อสั้มีผลกับสารละลายในหลอดทดลอง (*in vitro test*) แต่เมื่อนำมาประยุกต์ใช้บนเนื้อสุกรพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื่อน้อยลง โดยที่ปริมาณเชื้อจะลดลงน้อยลงมากเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ pediocin PA - 1 ในระดับสูงมากขึ้นประสิทธิภาพการลดลงจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

ผลการศึกษาผลของการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอซินในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรที่มาจากชิ้นส่วนต่างจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน พบว่า ปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนเนื้อสุกรที่ได้มาจากโรงฆ่าไม่ได้มาตรฐาน ซึ่งเนื้อไม่ผ่านการลดอุณหภูมิจะสูง และมีความแตกต่างกัน ทั้งนี้เนื้อสันคอ (Boston Shoulder) จะมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์สูงที่สุด ตามด้วยเนื้อสันนอก (Loin) และเนื้อสามชั้น (Belly) เนื้อทุกชิ้นส่วนที่ศึกษา มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ลดลงเมื่อสั้มีผลสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 ที่ระดับ 640 AU/ml แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้นก็ไม่ทำให้ประสิทธิภาพในการลดเชื้อดีขึ้น และเมื่อเนื้อทุกชิ้นส่วนสั้มีผลกับสารละลายกรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA - 1 แล้วพบว่าทำให้ค่า pH ของเนื้อลดต่ำลง ส่วนค่าสี (L\*) ที่วัดได้จากเนื้อสันนอกนั้นพบว่า เมื่อระดับความเข้มข้นของกรดแลคติก 1% และ pediocin PA - 1 สูงที่สุด (1280 AU/ml) มีผลทำให้เนื้อซีดลงอย่างเห็นได้ชัด

## 6.2 ข้อเสนอนณะ

ในการนำผลที่ได้จากการทดลองนี้ไปใช้ในการปฏิบัติจริง การใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 640 AU/ml จะเหมาะสมที่สุด แม้ว่าประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมบนเนื้อสุกจะลดลงได้ไม่มากนัก แต่เมื่อคำนึงถึง synergistic effects ของกรดแลคติกและแบคทีเรียโอซิน ซึ่งมีผลลดเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่สำคัญ ได้แก่ *Salmonella* Derby และ *Staphylococcus aureus* อีกทั้งประสิทธิภาพของกรดแลคติก หรือ pediocin PA – 1 แต่เพียงอย่างเดียว ก็ยังมีผลลดเชื้อ *Salmonella* Anatum การใช้ที่ระดับ 1280 AU/ml ร่วมกับกรดแลคติก จะให้ประสิทธิภาพในการลดเชื้อจุลินทรีย์ดีขึ้น แต่ก็จะมีผลกับคุณภาพเนื้อในด้านของสี และจากรายงานวิจัยที่พบว่า การใช้กรดแลคติก 2% นั้น แม้ว่าจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้มีประสิทธิภาพสูง แต่จะให้ผลในด้านสีของเนื้อเช่นกัน ทั้งนี้แนะนำให้ใช้กรดแลคติก 1% ร่วมกับ pediocin PA – 1 640 AU/ml ร่วมกับการเก็บเนื้อที่อุณหภูมิ 0 - 4°C จะทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ดีขึ้นมาก ซึ่งเชื้อทั้ง 3 นี้จะพบอยู่เป็นประจำในเนื้อสุกที่มาจากโรงฆ่าที่ไม่ได้มาตรฐาน นอกจากนี้ การใช้ที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวก็ไม่ทำให้สีของเนื้อซีดลงไปจากเดิมมาก

## บรรณานุกรม

- คมแห พิลาสสมบัติ. 2540. "การลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์บนผิวซากสุกรที่ผ่าน  
ขบวนการฆ่ามาตรฐานและไม่มาตรฐานโดยใช้สารละลายกรดแลคติกและคลอรีน"  
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า  
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- คาร เจตยะคามิน. 2541. "การศึกษาเปรียบเทียบการใช้ผลผลิตจากจุลินทรีย์ สมุนไพรผสม ไบโ  
โพนิก<sup>®</sup> โคลินคลอไรด์ และเบต้าอะโกนิสท์ ต่อคุณภาพของเนื้อสุกร". วิทยานิพนธ์ปริญญาโท  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2550. "การจัดการโรงฆ่าสัตว์." ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะ  
เทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ชลัท ศานติวงศา. 2542. "การคัดแยกและการศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียกรดแลคติกที่  
ผลิตสารยับยั้งจากน้ำนมโคดิบในประเทศไทย." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชัยณรงค์ คันธมนิต. 2529. "วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์." กรุงเทพมหานคร. ไทยวัฒนาพานิช.
- ผุสดี ตั้งวัชรินทร์. 2543ก. "ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกในการลดปริมาณ  
การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* Derby และ *Staphylococcus aureus* ในหลอดอาหาร."  
ปัญหาพิเศษ สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ  
ทหารลาดกระบัง.
- ผุสดี ตั้งวัชรินทร์. 2543ข. "ประสิทธิภาพของสารละลายกรดแลคติกในการลดปริมาณเชื้อ  
*Salmonella* Derby และ *Staphylococcus aureus* บนเนื้อสุกร." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท  
บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- เพ็ญศรี รอดมาและอุรารัตน์ วุฒิกरण. 2536. "การศึกษาสภาวะ Microaerobic ในการ  
วิเคราะห์ *Campylobacter* spp. สำหรับผลิตภัณฑ์ไก่สดแช่แข็ง." วารสารกระทรวง  
สาธารณสุข. 12 (3) : 60 -68.
- เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิเชียร. 2536. "เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์." ภาควิชาอุตสาหกรรม  
เกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ศศิธร คณะรัตน์และกานจน์ ธรรมาพิพัฒน์กุล. 2534. "การตรวจวิเคราะห์เนื้อสัตว์ใน  
ห้องปฏิบัติการ. หน้า 5 – 7 ใน เอกสารประกอบการฝึกอบรมพนักงานตรวจเนื้อฝ่าย  
สัตวแพทย์สาธารณสุข." กรุงเทพมหานคร. กรมปศุสัตว์.
- สุมาลี บุญมาและนพรัตน์ หนานริม. 2540. "การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ใน  
ผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่และเนื้อหมู." วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 31 (4) : 413 – 418.

- สุวณีย์ สุภเวชนี. 2536. "แบคทีเรียพื้นฐาน." ตำราของคณะกรรมการช่างานเพื่อพัฒนาและ  
 ประสานงานในด้านการสอนและการวิจัยในสาขาจุลชีววิทยา ปรลิตวิทยา และอิมมิวโนวิทยา.  
 มหาวิทยาลัยมหิดล. 248 น.
- อรนุช อุดรภิชาติ. 2530. "การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อซัล  
 โมเนลลาและการผลิตกล้าเชื้อผงเพื่อใช้หมักแหนม." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท  
 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Anonymous. 2001. "Food safety(animal&plantproducts)" [Online Available ]  
<http://www.reportprogram.com>.
- Alves, L., Mueller, R. A., Rowland, I.R. and Casey, N. H. 1995. "Meat Decontamination  
 with Organic Acids II – Vacuum packed meat. " *Vet Tecnica*. 5 (1) : 22 – 26.
- Bayles, D. O., Annous, B. A. and Wilkinson, B. J. 1996. "Cold Stress Proteins Induced in  
*Listeria monocytogenes* in Responses to Temperature Down Shock and Growth at  
 Low Temperatures." *Appl. Environ. Microbiol.* 62 (3) : 1116 – 1119.
- Bromberg, R., Moreno, I., Zaganni, C.L., R.R. Delboni and Josiane, O. 2004. "Isolation of  
 Bacteriocin – Producing Lactic Acid Bacteria from Meat and Meat Products and Its  
 Spectrum of Inhibitory Activity." *Braz. J. Micro.* 35 : 137 – 144.
- Buchanan, R. L., Lindsay, D. and Brozel, V. S. 1992. "Feasibility of Using Microbial  
 indicator Assays to Detect Temperature Abuse in Refrigerated Meat, Poultry and  
 Seafood Products." *Food Microbiol.* 9 : 279 – 301.
- Callewaert, R., Hugas, M. and De Vuyst, L. 2000. "Competitiveness and Bacteriocin  
 Production of Enterococci in The Production of Spanish – Style Dry Fermented  
 Sausages." *Int. J. Food. Microbiol.* 57 : 33 – 42.
- Cintas, L. M., Casaus, P., Havarstein, L.S. and Frison, L. N. 1997. "Biochemical and  
 Genetic Characterization of Enterocin P, a Novel Sec – Dependent Bacteriocin From  
*Enterococcus faecium* P13 with Abroad Antimicrobial Sprectrum." *Appl. Environ.*  
*Microbiol.* 63 : 4321 – 4330.
- Cosby, D. E., Carven, S.E., Harrison, M. A. and Cox, M. A. 1997. "Bacterial Isolates From  
 A Chicken Gizzard and Caeca with In Vitro Inhibitory Activity Against *Salmonella*  
 Typhimurium. " *J. Food Prot.* 60 (20) : 120 – 124.
- Cutter, C. N. and Siragusa, G. R. 1995. "Population Reductions of Gram – Negative  
 Pathogens Following Treatments with Nisin and Chelators Under Various

- Conditions." *J. Food Prot.* 58 (9) : 977 – 983.
- Dimitrieva – Moats, Ionita, G. C., Alotaibi, M. N. and Yuksel, G.U. 2004. "Comparative Studies on Bacteriocin Producing Lactic Acid Bacteria (LAB) That Are Active Against *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*." IFT Annual Meeting, July, 12 – 16. Las Vegas. N.Y.
- El – Khateib, T., Yousf, A. E. and Ockerman, H. W. 1993. "Inactivation and Attachment of *Listeria monocytogenes* On Beef Muscle Treated with Lactic Acid and Selected Bacteriocins." *J. Food Prot.* 56 (1) : 29 – 33.
- Ellerbrock, L. 1997. "Airborne Microflora in Poultry Slaughter Establishments." *Food Microbiol.* 14 : 527 – 531.
- FAO / WHO. 1974. "Toxicology Evaluation of Some Food Additives." 461 – 465. in The 17<sup>th</sup> Report of The Joint FAO / WHO Expert Committee on Food Additives. FAO Nutrition Meeting Report Series No.53. Rome. Geneva : World Health Organization.
- Franz, C. Janky, D. M., Arafa, A. S. and Harms, R. H. 1978. "Interrelationship of Lactobacillus and Zinc Bacitracin In the Diets of Turkey Poults." *Poultry Sci.* 57 : 1678 – 1689.
- Garriga, M. Pascual, M., Monfort, J. M. and Hugas M. 1998. "Selection of Lactobacilli for Chicken Probiotic Adjuncts." *J. Appl. Microbiol.* 84 : 125 – 132.
- Grower, J. L., Cooksey, K. and Getty, K. J. K. 2004. "Development and Characterization Of An Antimicrobial Packaging Film Coating Containing Nisin For Inhibition of *Listeria monocytogenes*." *J. Food Prot.* 67 (3) : 475 – 479.
- Hanlin, M. B., Kalcayanand, N., Ray, D. and Ray, B. 1993. "Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria In Combination Have Greater Antibacterial Activity." *J. Food Prot.* 56 : 252 – 255.
- Helander, J. M., Von Wright, A. and Mattila – Sandholm, M. 1997. "Potential of Lactic Acid Bacteria and Novel Antimicrobiols Against Gram – Negative Bacteria." *Trends in Food Science & Technology.* (8) : 146 – 150.
- Helander, M. and Mattila – Sandholm, M. 2000. "Permeability Barrier of The Gram – Negative Bacteria Outer Membrane With Special Reference To Nisin." *Inter. J. Food Micro.* 60 : 153 – 161.

- Hill, C. 1995. "Bacteriocin : Natural Antimicrobials From Microorganisms." 23 – 29. in G.W. Gould (ed.) *New Methods of Food Preservation*. Blackie Academic & Professional, London.
- Huis in't veld, J. H., Knowles, J. R. and Unal, R. 1994. "Impact of Animal Husbandry and Slaughter Technologies on Microbial Contamination of Meat : Monitoring and Control." *Meat Sci.* 36 (1 and 2) : 123 – 153.
- Jimenez – Diaz, R., Kios – Sanchez, R. M. Desmaz, M., Ruiz – Barba, J. L. and Piard, J. C. 1993. "Plantaricin S and T, Two New Bacteriocin Produced By *Lactobacillus plantarum* LPCD10 Isolated From A Green Olive Fermentation." *Appl. Environ. Microbiol.* 59 : 1416 – 1424.
- Kim, J. W., Loyd, B. and Christopher, J. 1993. "Penetration of Salmonella Typhimurium to Skin of Turkey That Had Been Defeathering Through Three Difference System : Scanning Electron Microscopic Examination." *J. Food Prot.* 56 (5) : 395 – 400.
- Kotula, K. L. and Pandya, Y. 1995. "Bacterial Contamination of Broiler Chicken Before Scalding." *J. Food Prot.* 5 (12) : 1326 – 1329.
- Larkin, C. Poppe, C. McNab, B., McEwan, B., Mahdi, A. and Odumeru, J. 2004. "Antibiotic Resistance of Salmonella Isolated From Hog, Beef and Chicken Carcass Samples from Provincially Inspected Abattoirs in Ontario." *J. Food Prot.* 67 (3) : 448 – 455.
- Laukova, A., Czikkova, S., Vasilkova, Z., Juris, D. and Marekova, M. 1998. "Occurrence of Bacteriocin Production Among Environmental Enterococci." *Letts. Appl. Microbiol.* 27 : 178 – 182.
- Longdell, G. R. 1994. "Advance Technologies In The Meat Industry." *Meat Sci.* 36 (1 and 2) : 277 – 291.
- Marshall, B. 1996. "Use of Double – Gradient Plates to Study Combined Effect of Salt, pH, Monolaurin and Temperature on *Listeria monocytogenes*." *J. Food Prot.* 59 : 601 – 607.
- Mathieu, A. M. 1992. "Hot – Boning and Acid Decontamination : A Technology For Developing Country." *Fleischwirtsch.* 72 (9) : 1273 – 1275.
- McAuliffe, O., P.Y. Marie, R.P. Ross, C. Hill and Abbee, T. 1998. " Lactacin 3147, a Broad Spectrum Bacteriocin Which Selective Dissipates the Membrane Potential.

- "Appl. And Envi. Microbiol. 64(2) : 439 – 445.
- Michael, D. 1995. "Housing, Husbandry and Welfare of Swine." *Quick Bibliography Series*. (19) : 157 – 165.
- Nes, I. F., Jay, J. M., Hazel, J. R. and Christensen, J. N. 1996. "Biosynthesis of Bacteriocins From Lactic Acid Bacteria." *Antonie van Leeuwenhoek*. 70 : 113 – 122.
- Olasupo, N. A., Schillinger, U., Franz, C. M. A. P. and Hoolaapfel, W. H. 1994. "Bacteriocin Production By *Enterococcus faecium* NA01 From 'Wara' – a fermented Skimmed Cow Milk Product From West Africa." *Lett. Appl. Microbiol.* 19 : 438 – 441.
- Oliveira, M. and Brito, D. 1996. "Lactic Acid Effect on The Decontamination of Sheep Meat (Lamb) Packed in Vacuum." *Vet Technica*. 6 : 30 – 33.
- Pearson, A. M. and Dutson, T. R. 1986. "Meat and Poultry Microbiology." Connecticut : Avi, 1986.
- Rozum, J. J. and Arthur, J. M. 1997. "Microbiological Quality of Cooked Chicken Breasts Containing Communication Available Shelf – Life Extended." *Processing and Products*. Wisconsin.
- Shah, D.H., Roy, A. and Purohit, J.H. 2001. "Efficacy of Drugs and Probiotics on Infection Diseases Pathogen." *Indian. J. of Comp. Micro. And Infect. Disea.* (1) : 131 – 133.
- Saide – Albornoz, J. J. 1995. "Contamination of Pork Carcass During Slaughter, Fabrication and Chilled Storage." *J. Food Prot.* 58 (9) : 993 – 997.
- Samelis, J., Sofos, J. N., Kendal, P. A. and Smith, G. C. 2001. "Influence of The Natural Microbial Flora on The Acid Tolerance Response of *Listeria monocytogenes* in a Model System of Fresh Meat Decontamination Fluids." *Appl. Environ. Microbiol.* 67 (6) : 2410 – 2420.
- Sammacro, M. L., Glaser, P. and Gram, L. 1997. "Prevalence of Salmonella, Listeria and Yersinia In The Slaughterhouse Environment and On Work Surface, Equipments and Workers." *J. Food Prot.* 60 (4) : 367 – 371.
- SAS. 1985. *SAS / STAT Guide for Personal Computers*, Version 6 Edition. North Carolina, USA : SAS Institute Inc.
- Schillinger, U. and Lucke, F. 1989. "Antibacterial Activity of *Lactobacillus sake* Isolated From Meat." *Appl. Environ. Microbiol.* 55 (8) : 1901 – 1906.

- SchÖbitz, R., Hen, H. C. and Fadda, S. 1999. "A Bacteriocin From *Carnobacterium piscicola* For The Control of *Listeria monocytogenes* in Vacuum – Packaged Meat." *J. Food Micro.* 16 : 249 – 255.
- Simonella, C. A., De Velasco, M. L. G. and Frison, L. N. 1997. "Antibacterial Activity of Enterococcus Strains Against *Vibrio cholerae*." *Letts. Appl. Microbiol.* 24 : 139 – 143.
- Snijders, J. M. A., Walsh, J. and Scott, J. 1985. "Lactic Acid As A Decontamination in Salughter and Processing Producted." *Vet Quart.* 7 (4) : 277 – 282.
- Spelhaug, S. R. and Harlander, S. K. 1989. "Inhibition of Foodborne Bacterial Pathogens By Bacteriocin From *Lactobacillus lactis* and *Pediococcus pentosaceus*." *J. Food Prot.* 52 (12) : 856 – 862.
- Stevens, K. A., Sheldon, B. W., Kelps, N. A. and Klaenhammer, T. R. 1991. "Nisin Treatment For Inactivation of Salmonella Species and Other Gram – Negative Bacteria." *Appl. Environ. Microbiol.* 57 : 3613 – 3615.
- Sundhakul, M., Dangsubha, W. and Suyanandana, P. 1975. "Thailand's Traditional Fermented Food Products : A Breif Descreption." *Thai. J. Agri. Sci.* 8 (4) : 205 – 219.
- Swetwiwathana, A. and Lotong, N. 1999. "Selection of Bacteriocin Producing Lactic Acid Bacteria From Nham (Thai Fermented Meat)." *Proceeding of International Conferences on ASIAN Network on Microbial Researches.* November 29 December 1, 1999. Chiangmai, Thailand. PIII / 16 : 543 – 548.
- Swetwiwathana, A., Lotong, N. and Sonomoto, K. 2000. "Isolation and Selection of Thermotolerant Bacteriocin – Producing Lactic Acid Bacteria from Nham (Thai Fermented Meat)." *Proceeding of the 2<sup>nd</sup> Seminar of Thai and Japanese Coordinator Meeting.* Yamaguchi University, Japan.
- Swetwiwathana, A., Lotong, N., Fischer, A. and Sonomoto, K. 2001. "Potential For Use of Isolated Bacteriocin – Producing *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 From Nham (Thai Fermented Meat) To Control The Growth of *Salmonella Anatum* (An *In – Vitro* Study)." *The 45<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST) Proceeding.* Volume II : 18 – 19. August 26 – 31, 2001. Krakow, Poland.

- Swetwivathana, A., Zendo, T., Lotong, N., Nakayama, J. and Sonomoto, K. 2004. "Identification of Pediocin PA – 1 Producing *Pediococcus pentosaceus* TISTR 536 Isolated from Nham (Thai Fermented Meat)." *The 50<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology*. August 8<sup>th</sup> – 13<sup>th</sup> 2004. Helsinki, Finland.
- Thoeger, K. 1993. "Scalding and Dehairing Technology Influence on The Bacterial Counts of Pig Carcass." *Fleischwirtsch.* 75 (10) : 1157 – 1760.
- Thomas, C. J. and Mc Meekin, T. A. 2001. "Attachment of *Salmonella spp.* To Chicken Muscle Surface." *J. Appl. Environ. Microbiol.* 42 (1) : 130 – 134.
- Vignalo, G. J. Palacios, M. and Farias E. 2000. "Combinated Effect of Bacteriocins on The Survival Of Various *Listeria* Species in Broth and Meat System." *Current Micro.* 41 (6) : 410 – 416.
- Villani, F. G., Salzano, E., Sorrentino, O., Pepe, P. and Coppola, S. 2003. "Enterocin 226NWC, A Bacteriocin Produced By *Enterococcus faecalis* 226, Active Against *Listeria monocytogenes*." *J. Appl. Bacteriol.* 74 : 380 – 387.
- WHO. 1988. "Salmonella Control." *The Role of Animal and Product Hygiene Technica Report*. Geneva : World Health Organization.
- Woolthuis, C. H. I. and Smulders, F. J. M. 1985. "Microbial Decontamination of Calf Carcass by Lactic Acid Sprays." *J. Food Prot.* 48 (10) : 832 – 837.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 7.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโชนในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby ในหลอดทดลอง (*in vitro* test) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 – 30 ของการศึกษา

Source	df	SS	MS	F	Pr > F
Treatment	47	0.0126	0.1267	34.02	0.0035
A	1	0.1674	0.0588	15.46	0.0009
B	3	0.0361	0.0073	20.54	0.0534
C	5	0.1531	0.0510	13.92	0.0001
A*B	3	0.0116	0.0023	16.46	0.0045
A*C	5	0.0233	0.0061	18.33	0.0065
B*C	15	0.0314	0.0015	19.11	0.0039
A*B*C	15	0.0446	0.0446	28.32	0.0003
Error					
Corrected Total					

C.V. = 4.5624

R- square = 0.0770

Root MSE = 0.1984

หมายเหตุ

A หมายถึง ระดับของสารละลายกรดแลคติก 2 ระดับ คือ 0% และ 1%

B หมายถึง ระดับของสารละลายแบคทีเรียโชน 4 ระดับ คือ pediocin PA – 1 0 AU/ml pediocin PA – 1 320 AU/ml pediocin PA – 1 640 AU/ml และ pediocin PA – 1 1280 AU/ml

C หมายถึงระยะเวลาที่ทำการศึกษา คือ 0 6 12 18 24 และ 30 ชั่วโมง

ตารางผนวกที่ 7.2 แสดงค่า Least Squares Means และการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติก ระดับความเข้มข้นของสารละลายแบคทีเรียโอสตินและระยะเวลา ต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Derby ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

General Linear Models Procedure

Least Squares Means

Least Squares Means for effect LAC\*BAC\*TIME

Pr > |T| H0: LSMEAN(i)=LSMEAN(j)

Dependent Variable: COUNTS

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	.	0.8563	0.7297	0.8050	0.7173	0.9737	0.7797	0.7797	0.7051
2	0.8563	.	0.8693	0.9475	0.8563	0.8822	0.9213	0.9213	0.8434
3	0.7297	0.8693	.	0.9213	0.9869	0.7545	0.9475	0.9475	0.9737
4	0.8050	0.0001	0.9213	.	0.9083	0.0001	0.9737	0.9737	0.8953
5	0.7173	0.8563	0.9869	0.9083	.	0.7421	0.9344	0.9344	0.9869
6	0.9737	0.8822	0.7545	0.8306	0.7421	.	0.8050	0.8050	0.7297
7	0.7797	0.9213	0.9475	0.9737	0.9344	0.8050	.	0.0001	0.9213
8	0.7797	0.9213	0.9475	0.9737	0.0001	0.8050	1.0000	.	0.9213
9	0.7051	0.8434	0.9737	0.8953	0.9869	0.7297	0.9213	0.9213	.
i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10	0.0001	0.7297	0.8563	0.0001	0.8693	0.6216	0.0001	0.8050	0.8822
11	0.6100	0.7421	0.8693	0.7923	0.8822	0.6333	0.8178	0.8178	0.8953
12	0.6569	0.7923	0.9213	0.8434	0.9344	0.6808	0.8693	0.8693	0.9475
13	0.9475	0.9083	0.7797	0.8563	0.7671	0.9737	0.8306	0.8306	0.7545
14	0.9475	0.8050	0.6808	0.7545	0.6688	0.9213	0.7297	0.7297	0.6569
15	0.7545	0.8953	0.9737	0.9475	0.9606	0.7797	0.9737	0.9737	0.9475
16	0.7421	0.8822	0.9869	0.9344	0.9737	0.7671	0.9606	0.9606	0.9606
17	0.7297	0.8693	1.0000	0.9213	0.9869	0.7545	0.9475	0.9475	0.9737
18	0.6688	0.8050	0.9344	0.8563	0.9475	0.6929	0.8822	0.8822	0.9606
i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
19	0.6810	0.5608	0.4615	0.5199	0.4521	0.6584	0.5000	0.5000	0.4428
20	0.7890	0.9227	0.9536	0.9721	0.9412	0.8130	0.9969	0.9969	0.9289

21 0.9969 0.8614 0.7416 0.8130 0.7299 0.9721 0.7890 0.7890 0.7183  
 22 0.6668 0.5479 0.4498 0.5074 0.4405 0.6445 0.4878 0.4878 0.4314  
 23 0.9412 0.9227 0.8009 0.8736 0.7890 0.9660 0.8493 0.8493 0.7771  
 24 0.9969 0.8614 0.7416 0.8130 0.7299 0.9721 0.7890 0.7890 0.7183  
 25 0.5199 0.4158 0.3328 0.3812 0.3252 0.5000 0.3646 0.3646 0.3176  
 26 0.3406 0.2615 0.2016 0.2362 0.1962 0.3252 0.2242 0.2242 0.1910  
 27 0.4829 0.3833 0.3047 0.3505 0.2975 0.4638 0.3348 0.3348 0.2904

*i/j* 1 2 3 4 5 6 7 8 9

28 0.5846 0.4733 0.3833 0.4360 0.3749 0.5635 0.4180 0.4180 0.3667  
 29 0.7241 0.6006 0.4975 0.5582 0.4878 0.7010 0.5376 0.5376 0.4781  
 30 0.5453 0.4383 0.3525 0.4026 0.3445 0.5249 0.3854 0.3854 0.3367  
 31 0.8493 0.9845 0.8920 0.9660 0.8797 0.8736 0.9412 0.9412 0.8675  
 32 0.8645 1.0000 0.8767 0.9505 0.8645 0.8889 0.9258 0.9258 0.8523  
 33 0.6725 0.8009 0.9227 0.8493 0.9351 0.6953 0.8736 0.8736 0.9474  
 34 0.6867 0.8160 0.9382 0.8645 0.9505 0.7096 0.8889 0.8889 0.9629  
 35 0.4292 0.5350 0.6417 0.5766 0.6528 0.4475 0.5979 0.5979 0.6640  
 36 0.6725 0.8009 0.9227 0.8493 0.9351 0.6953 0.8736 0.8736 0.9474

*i/j* 1 2 3 4 5 6 7 8 9

37 0.7299 0.8614 0.9845 0.9104 0.9969 0.7534 0.9351 0.9351 0.9907  
 38 0.6445 0.7711 0.8920 0.8190 0.9043 0.6668 0.8432 0.8432 0.9166  
 39 0.9043 0.7711 0.6556 0.7241 0.6445 0.8797 0.7010 0.7010 0.6334  
 40 0.9104 0.9536 0.8311 0.9043 0.8190 0.9351 0.8797 0.8797 0.8069  
 41 0.6033 0.7270 0.8462 0.7741 0.8584 0.6251 0.7979 0.7979 0.8706  
 42 0.5376 0.6556 0.7711 0.7010 0.7830 0.5582 0.7241 0.7241 0.7950  
 43 0.9412 0.9227 0.8009 0.8736 0.7890 0.9660 0.8493 0.8493 0.7771  
 44 0.9660 0.8311 0.7125 0.7830 0.7010 0.9412 0.7593 0.7593 0.6895  
 45 0.8493 0.9845 0.8920 0.9660 0.8797 0.8736 0.9412 0.9412 0.8675

*i/j* 1 2 3 4 5 6 7 8 9

46 0.7299 0.8614 0.9845 0.9104 0.9969 0.7534 0.9351 0.9351 0.9907  
 47 0.8645 1.0000 0.8767 0.9505 0.8645 0.8889 0.9258 0.9258 0.8523  
 48 0.7154 0.8462 0.9691 0.8951 0.9814 0.7387 0.9197 0.9197 0.9938

*i/j* 10 11 12 13 14 15 16 17 18

1 0.5986 0.6100 0.6569 0.9475 0.9475 0.7545 0.7421 0.7297 0.6688  
 2 0.7297 0.7421 0.7923 0.9083 0.8050 0.8953 0.8822 0.8693 0.8050

3	0.8563	0.8693	0.9213	0.7797	0.6808	0.9737	0.9869	1.0000	0.9344
4	0.7797	0.7923	0.8434	0.8563	0.7545	0.9475	0.9344	0.9213	0.8563
5	0.8693	0.8822	0.9344	0.7671	0.6688	0.9606	0.9737	0.9869	0.9475
6	0.6216	0.6333	0.6808	0.9737	0.9213	0.7797	0.7671	0.7545	0.6929
7	0.8050	0.8178	0.8693	0.8306	0.7297	0.9737	0.9606	0.9475	0.8822
8	0.8050	0.8178	0.8693	0.8306	0.7297	0.9737	0.9606	0.9475	0.8822
9	0.8822	0.8953	0.9475	0.7545	0.6569	0.9475	0.9606	0.9737	0.9606
i/j	10	11	12	13	14	15	16	17	18
10	.	0.9869	0.9344	0.6450	0.5537	0.8306	0.8434	0.8563	0.9213
11	0.9869	.	0.9475	0.6569	0.5648	0.8434	0.8563	0.8693	0.9344
12	0.9344	0.9475	.	0.7051	0.6100	0.8953	0.9083	0.9213	0.9869
13	0.6450	0.6569	0.7051	.	0.8953	0.8050	0.7923	0.7797	0.7173
14	0.5537	0.5648	0.6100	0.8953	.	0.7051	0.6929	0.6808	0.6216
15	0.8306	0.8434	0.8953	0.8050	0.7051	.	0.9869	0.9737	0.9083
16	0.8434	0.8563	0.9083	0.7923	0.6929	0.9869	.	0.9869	0.9213
17	0.8563	0.8693	0.9213	0.7797	0.6808	0.9737	0.9869	.	0.9344
18	0.9213	0.9344	0.9869	0.7173	0.6216	0.9083	0.9213	0.9344	.
i/j	10	11	12	13	14	15	16	17	18
19	0.3646	0.3729	0.4069	0.6361	0.7270	0.4805	0.4709	0.4615	0.4158
20	0.8190	0.8311	0.8797	0.8371	0.7416	0.9783	0.9660	0.9536	0.8920
21	0.6169	0.6279	0.6725	0.9474	0.9536	0.7652	0.7534	0.7416	0.6838
22	0.3545	0.3626	0.3961	0.6224	0.7125	0.4686	0.4591	0.4498	0.4048
23	0.6725	0.6838	0.7299	0.9907	0.8920	0.8250	0.8130	0.8009	0.7416
24	0.6169	0.6279	0.6725	0.9474	0.9536	0.7652	0.7534	0.7416	0.6838
25	0.2550	0.2615	0.2887	0.4805	0.5608	0.3485	0.3406	0.3328	0.2957
26	0.1481	0.1525	0.1709	0.3102	0.3729	0.2127	0.2071	0.2016	0.1758
27	0.2317	0.2377	0.2632	0.4451	0.5224	0.3195	0.3121	0.3047	0.2698
i/j	10	11	12	13	14	15	16	17	18
28	0.2975	0.3047	0.3348	0.5427	0.6279	0.4004	0.3918	0.3833	0.3426
29	0.3961	0.4048	0.4405	0.6782	0.7711	0.5174	0.5074	0.4975	0.4498
30	0.2715	0.2783	0.3066	0.5049	0.5872	0.3687	0.3605	0.3525	0.3139
31	0.7593	0.7711	0.8190	0.8981	0.8009	0.9166	0.9043	0.8920	0.8311
32	0.7446	0.7563	0.8039	0.9135	0.8160	0.9012	0.8889	0.8767	0.8160
33	0.9412	0.9536	0.9969	0.7183	0.6279	0.8981	0.9104	0.9227	0.9845

34	0.9258	0.9382	0.9876	0.7329	0.6417	0.9135	0.9258	0.9382	1.0000
35	0.7682	0.7563	0.7096	0.4662	0.3939	0.6196	0.6306	0.6417	0.6981
36	0.9412	0.9536	0.9969	0.7183	0.6279	0.8981	0.9104	0.9227	0.9845
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
37	0.8797	0.8920	0.9412	0.7771	0.6838	0.9598	0.9721	0.9845	0.9536
38	0.0001	0.0001	0.0001	0.6895	0.0000	0.0001	0.0001	0.8920	0.9536
39	0.5376	0.5479	0.5899	0.8553	0.9536	0.6782	0.6668	0.6556	0.6006
40	0.7010	0.7125	0.0001	0.0001	0.0001	0.8553	0.8432	0.8311	0.7711
41	0.9814	0.9691	0.9197	0.6472	0.5608	0.8220	0.8341	0.8462	0.9074
42	0.9043	0.0001	0.0001	0.0001	0.4975	0.7475	0.7593	0.7711	0.8311
43	0.6725	0.6838	0.7299	0.9907	0.8920	0.8250	0.8130	0.8009	0.7416
44	0.5899	0.6006	0.6445	0.9166	0.9845	0.0001	0.0001	0.0001	0.6556
45	0.7593	0.7711	0.0001	0.0001	0.0001	0.9166	0.9043	0.8920	0.8311
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
46	0.8797	0.8920	0.9412	0.7771	0.6838	0.9598	0.9721	0.9845	0.9536
47	0.7446	0.7563	0.8039	0.9135	0.8160	0.0001	0.0001	0.0001	0.8160
48	0.8951	0.0001	0.0001	0.0001	0.6697	0.9443	0.9567	0.9691	0.9691
<i>i/j</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
1	0.6810	0.7890	0.9969	0.6668	0.9412	0.9969	0.5199	0.3406	0.4829
2	0.0001	0.9227	0.8614	0.5479	0.9227	0.8614	0.4158	0.2615	0.3833
3	0.4615	0.9536	0.7416	0.4498	0.0001	0.7416	0.3328	0.2016	0.3047
4	0.5199	0.9721	0.8130	0.5074	0.8736	0.8130	0.0001	0.2362	0.3505
5	0.4521	0.9412	0.7299	0.4405	0.7890	0.7299	0.3252	0.1962	0.2975
6	0.6584	0.8130	0.9721	0.6445	0.9660	0.9721	0.5000	0.3252	0.4638
7	0.5000	0.9969	0.7890	0.4878	0.8493	0.7890	0.3646	0.2242	0.3348
8	0.5000	0.9969	0.7890	0.4878	0.8493	0.7890	0.3646	0.2242	0.3348
9	0.4428	0.9289	0.7183	0.4314	0.7771	0.7183	0.3176	0.1910	0.2904
<i>i/j</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
10	0.3646	0.8190	0.6169	0.3545	0.6725	0.6169	0.2550	0.1481	0.2317
11	0.3729	0.8311	0.0001	0.3626	0.6838	0.6279	0.2615	0.1525	0.2377
12	0.4069	0.8797	0.6725	0.3961	0.7299	0.6725	0.2887	0.1709	0.2632
13	0.6361	0.8371	0.9474	0.6224	0.0001	0.9474	0.4805	0.3102	0.4451
14	0.7270	0.7416	0.9536	0.7125	0.8920	0.9536	0.5608	0.0001	0.5224
15	0.4805	0.9783	0.7652	0.4686	0.8250	0.7652	0.3485	0.2127	0.3195

16	0.4709	0.9660	0.7534	0.4591	0.8130	0.7534	0.3406	0.2071	0.3121
17	0.4615	0.9536	0.7416	0.4498	0.8009	0.7416	0.3328	0.2016	0.3047
18	0.4158	0.8920	0.6838	0.4048	0.7416	0.6838	0.2957	0.1758	0.2698
<i>i/j</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
19	.	0.5198	0.6992	0.9853	0.6456	0.6992	0.8253	0.6065	0.782
20	0.5198	.	0.7967	0.5080	0.8540	0.7967	0.3877	0.2473	0.3582
21	0.6992	0.7967	.	0.6857	0.9413	1.0000	0.5439	0.3678	0.5080
22	0.9853	0.5080	0.6857	.	0.6325	0.6857	0.8396	0.6194	0.7967
23	0.6456	0.8540	0.9413	0.6325	.	0.9413	0.4963	0.3301	0.4621
24	0.6992	0.7967	1.0000	0.6857	0.9413	.	0.5439	0.3678	0.5080
25	0.8253	0.3877	0.5439	0.8396	0.4963	0.5439	.	0.7685	0.9560
26	0.6065	0.2473	0.3678	0.6194	0.3301	0.3678	0.7685	.	0.8110
27	0.7826	0.3582	0.5080	0.7967	0.4621	0.5080	0.9560	0.8110	.
<i>i/j</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
28	0.8975	0.4400	0.6065	0.9121	0.5562	0.6065	0.9267	0.6992	0.8830
29	0.9560	0.5562	0.7405	0.9413	0.6857	0.7405	0.7826	0.5686	0.7405
30	0.8540	0.4081	0.5686	0.8685	0.5198	0.5686	0.9706	0.7405	0.9267
31	0.5686	0.9413	0.8540	0.5562	0.9121	0.8540	0.4292	0.2785	0.3978
32	0.5811	0.9267	0.8685	0.5686	0.9267	0.8685	0.4400	0.2867	0.4081
33	0.4292	0.8830	0.6857	0.4186	0.7405	0.6857	0.3123	0.1926	0.2867
34	0.4400	0.8975	0.6992	0.4292	0.7545	0.6992	0.3211	0.1989	0.2951
35	0.2549	0.6194	0.4510	0.2473	0.4963	0.4510	0.1745	0.0991	0.1578
36	0.4292	0.8830	0.6857	0.4186	0.7405	0.6857	0.3123	0.1926	0.2867
<i>i/j</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
37	0.4733	0.9413	0.7405	0.4621	0.7967	0.7405	0.3487	0.2187	0.3211
38	0.4081	0.8540	0.6589	0.3978	0.7129	0.6589	0.2951	0.1804	0.2705
39	0.7826	0.7129	0.9121	0.7685	0.8540	0.9121	0.6194	0.4292	0.5811
40	0.6194	0.8830	0.9121	0.6065	0.9706	0.9121	0.4733	0.3123	0.4400
41	0.3777	0.8110	0.6194	0.3678	0.6722	0.6194	0.2705	0.1632	0.2473
42	0.3301	0.7405	0.5562	0.3211	0.6065	0.5562	0.2327	0.1374	0.2119
43	0.6456	0.8540	0.9413	0.6325	1.0000	0.9413	0.4963	0.3301	0.4621
44	0.7267	0.7685	0.9706	0.7129	0.9121	0.9706	0.5686	0.3877	0.5318
45	0.5686	0.9413	0.8540	0.5562	0.9121	0.8540	0.4292	0.2785	0.3978
<i>i/j</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
46	0.4733	0.9413	0.7405	0.4621	0.7967	0.7405	0.3487	0.2187	0.3211

47	0.5811	0.9267	0.8685	0.5686	0.9267	0.8685	0.4400	0.2867	0.4081
48	0.4621	0.9267	0.7267	0.4510	0.7826	0.7267	0.3393	0.2119	0.3123
<i>ij</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
1	0.5846	0.7241	0.5453	0.8493	0.8645	0.6725	0.6867	0.4292	0.6725
2	0.4733	0.6006	0.4383	0.9845	1.0000	0.8009	0.8160	0.5350	0.8009
3	0.3833	0.4975	0.3525	0.8920	0.8767	0.9227	0.9382	0.6417	0.9227
4	0.4360	0.5582	0.4026	0.9660	0.9505	0.8493	0.8645	0.5766	0.8493
5	0.3749	0.4878	0.3445	0.8797	0.8645	0.9351	0.9505	0.6528	0.9351
6	0.5635	0.7010	0.5249	0.8736	0.8889	0.6953	0.7096	0.4475	0.6953
7	0.4180	0.5376	0.3854	0.9412	0.9258	0.8736	0.8889	0.5979	0.8736
8	0.4180	0.5376	0.3854	0.9412	0.9258	0.8736	0.8889	0.5979	0.8736
9	0.3667	0.4781	0.3367	0.8675	0.8523	0.9474	0.9629	0.6640	0.9474
<i>ij</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
10	0.2975	0.3961	0.2715	0.7593	0.7446	0.9412	0.9258	0.7682	0.9412
11	0.3047	0.4048	0.2783	0.7711	0.7563	0.9536	0.9382	0.7563	0.9536
12	0.3348	0.4405	0.3066	0.8190	0.8039	0.9969	0.9876	0.7096	0.9969
13	0.5427	0.6782	0.5049	0.8981	0.9135	0.7183	0.7329	0.4662	0.7183
14	0.6279	0.7711	0.5872	0.8009	0.8160	0.6279	0.6417	0.3939	0.6279
15	0.4004	0.5174	0.3687	0.9166	0.9012	0.8981	0.9135	0.6196	0.8981
16	0.3918	0.5074	0.3605	0.9043	0.8889	0.9104	0.9258	0.6306	0.9104
17	0.3833	0.4975	0.3525	0.8920	0.8767	0.9227	0.9382	0.6417	0.9227
18	0.3426	0.4498	0.3139	0.8311	0.8160	0.9845	1.0000	0.6981	0.9845
<i>ij</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
19	0.8975	0.9560	0.8540	0.5686	0.5811	0.4292	0.4400	0.2549	0.4292
20	0.4400	0.5562	0.4081	0.9413	0.9267	0.8830	0.8975	0.6194	0.8830
21	0.6065	0.7405	0.5686	0.8540	0.8685	0.6857	0.6992	0.4510	0.6857
22	0.9121	0.9413	0.8685	0.5562	0.5686	0.4186	0.4292	0.2473	0.4186
23	0.5562	0.6857	0.5198	0.9121	0.9267	0.7405	0.7545	0.4963	0.7405
24	0.6065	0.7405	0.5686	0.8540	0.8685	0.6857	0.6992	0.4510	0.6857
25	0.9267	0.7826	0.9706	0.4292	0.4400	0.3123	0.3211	0.1745	0.3123
26	0.6992	0.5686	0.7405	0.2785	0.2867	0.1926	0.1989	0.0991	0.1926
27	0.8830	0.7405	0.9267	0.3978	0.4081	0.2867	0.2951	0.1578	0.2867
<i>ij</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
28	.	0.8540	0.9560	0.4847	0.4963	0.3582	0.3678	0.2053	0.3582
29	0.8540	.	0.8110	0.6065	0.6194	0.4621	0.4733	0.2785	0.4621

30 0.9560 0.8110 . 0.4510 0.4621 0.3301 0.3393 0.1864 0.3301  
 31 0.4847 0.6065 0.4510 . 0.9853 0.8253 0.8396 0.5686 0.8253  
 32 0.4963 0.6194 0.4621 0.9853 . 0.8110 0.8253 0.5562 0.8110  
 33 0.3582 0.4621 0.3301 0.8253 0.8110 . 0.9853 0.7267 1.0000  
 34 0.3678 0.4733 0.3393 0.8396 0.8253 0.9853 . 0.7129 0.9853  
 35 0.2053 0.2785 0.1864 0.5686 0.5562 0.7267 0.7129 . 0.7267  
 36 0.3582 0.4621 0.3301 0.8253 0.8110 1.0000 0.9853 0.7267 .

*ij* 28 29 30 31 32 33 34 35 36  
 37 0.3978 0.5080 0.3678 0.8830 0.8685 0.9413 0.9560 0.6722 0.9413  
 38 0.3393 0.4400 0.3123 0.7967 0.7826 0.9706 0.9560 0.7545 0.9706  
 39 0.6857 0.8253 0.6456 0.7685 0.7826 0.6065 0.6194 0.3877 0.6065  
 40 0.5318 0.6589 0.4963 0.9413 0.9560 0.7685 0.7826 0.5198 0.7685  
 41 0.3123 0.4081 0.2867 0.7545 0.7405 0.9267 0.9121 0.7967 0.9267  
 42 0.2705 0.3582 0.2473 0.6857 0.6722 0.8540 0.8396 0.8685 0.8540  
 43 0.5562 0.6857 0.5198 0.9121 0.9267 0.7405 0.7545 0.4963 0.7405  
 44 0.6325 0.7685 0.5938 0.8253 0.8396 0.6589 0.6722 0.4292 0.6589  
 45 0.4847 0.6065 0.4510 1.0000 0.9853 0.8253 0.8396 0.5686 0.8253  
*ij* 28 29 30 31 32 33 34 35 36

46 0.3978 0.5080 0.3678 0.8830 0.8685 0.9413 0.9560 0.6722 0.9413  
 47 0.4963 0.6194 0.4621 0.9853 1.0000 0.8110 0.8253 0.5562 0.8110  
 48 0.3877 0.4963 0.3582 0.8685 0.8540 0.9560 0.9706 0.6857 0.9560  
*ij* 37 38 39 40 41 42 43 44 45

1 0.7299 0.6445 0.9043 0.9104 0.6033 0.5376 0.9412 0.9660 0.8493  
 2 0.8614 0.7711 0.7711 0.9536 0.7270 0.6556 0.9227 0.8311 0.9845  
 3 0.9845 0.8920 0.6556 0.8311 0.8462 0.7711 0.8009 0.7125 0.8920  
 4 0.9104 0.8190 0.7241 0.9043 0.7741 0.7010 0.8736 0.7830 0.9660  
 5 0.9969 0.9043 0.6445 0.8190 0.8584 0.7830 0.7890 0.7010 0.8797  
 6 0.7534 0.6668 0.8797 0.9351 0.6251 0.5582 0.9660 0.9412 0.8736  
 7 0.9351 0.8432 0.7010 0.8797 0.7979 0.7241 0.8493 0.7593 0.9412  
 8 0.9351 0.8432 0.7010 0.8797 0.7979 0.7241 0.8493 0.7593 0.9412  
 9 0.9907 0.9166 0.6334 0.8069 0.8706 0.7950 0.7771 0.6895 0.8675  
*ij* 37 38 39 40 41 42 43 44 45

10 0.8797 0.9721 0.5376 0.7010 0.9814 0.9043 0.6725 0.5899 0.7593  
 11 0.8920 0.9845 0.5479 0.7125 0.9691 0.8920 0.6838 0.6006 0.7711

12	0.9412	0.9660	0.5899	0.7593	0.9197	0.8432	0.7299	0.6445	0.8190	
13	0.7771	0.6895	0.8553	0.9598	0.6472	0.5793	0.9907	0.9166	0.8981	
14	0.6838	0.6006	0.9536	0.8614	0.5608	0.4975	0.8920	0.9845	0.8009	
15	0.9598	0.8675	0.6782	0.8553	0.8220	0.7475	0.8250	0.7358	0.9166	
16	0.9721	0.8797	0.6668	0.8432	0.8341	0.7593	0.8130	0.7241	0.9043	
17	0.9845	0.8920	0.6556	0.8311	0.8462	0.7711	0.8009	0.7125	0.8920	
18	0.9536	0.9536	0.6006	0.7711	0.9074	0.8311	0.7416	0.6556	0.8311	
	<i>ij</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
19	0.4733	0.4081	0.7826	0.6194	0.3777	0.3301	0.6456	0.7267	0.5686	
20	0.9413	0.8540	0.7129	0.8830	0.8110	0.7405	0.8540	0.7685	0.9413	
21	0.7405	0.6589	0.9121	0.9121	0.6194	0.5562	0.9413	0.9706	0.8540	
22	0.4621	0.3978	0.7685	0.6065	0.3678	0.3211	0.6325	0.7129	0.5562	
23	0.7967	0.7129	0.8540	0.9706	0.6722	0.6065	1.0000	0.9121	0.9121	
24	0.7405	0.6589	0.9121	0.9121	0.6194	0.5562	0.9413	0.9706	0.8540	
25	0.3487	0.2951	0.6194	0.4733	0.2705	0.2327	0.4963	0.5686	0.4292	
26	0.2187	0.1804	0.4292	0.3123	0.1632	0.1374	0.3301	0.3877	0.2785	
27	0.3211	0.2705	0.5811	0.4400	0.2473	0.2119	0.4621	0.5318	0.3978	
	<i>ij</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
28	0.3978	0.3393	0.6857	0.5318	0.3123	0.2705	0.5562	0.6325	0.4847	
29	0.5080	0.4400	0.8253	0.6589	0.4081	0.3582	0.6857	0.7685	0.6065	
30	0.3678	0.3123	0.6456	0.4963	0.2867	0.2473	0.5198	0.5938	0.4510	
31	0.8830	0.7967	0.7685	0.9413	0.7545	0.6857	0.9121	0.8253	1.0000	
32	0.8685	0.7826	0.7826	0.9560	0.7405	0.6722	0.9267	0.8396	0.9853	
33	0.9413	0.9706	0.6065	0.7685	0.9267	0.8540	0.7405	0.6589	0.8253	
34	0.9560	0.9560	0.6194	0.7826	0.9121	0.8396	0.7545	0.6722	0.8396	
35	0.6722	0.7545	0.3877	0.5198	0.7967	0.8685	0.4963	0.4292	0.5686	
36	0.9413	0.9706	0.6065	0.7685	0.9267	0.8540	0.7405	0.6589	0.8253	
	<i>ij</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
37	.	0.9121	0.6589	0.8253	0.8685	0.7967	0.7967	0.7129	0.8830	
38	0.9121	.	0.5811	0.7405	0.9560	0.8830	0.7129	0.6325	0.7967	
39	0.6589	0.5811	.	0.8253	0.5439	0.4847	0.8540	0.9413	0.7685	
40	0.8253	0.7405	0.8253	.	0.6992	0.6325	0.9706	0.8830	0.9413	
41	0.8685	0.9560	0.5439	0.6992	.	0.9267	0.6722	0.5938	0.7545	

42 0.7967 0.8830 0.4847 0.6325 0.9267 . 0.6065 0.5318 0.6857  
 43 0.7967 0.7129 0.8540 0.9706 0.6722 0.6065 . 0.9121 0.9121  
 44 0.7129 0.6325 0.9413 0.8830 0.5938 0.5318 0.9121 . 0.8253  
 45 0.8830 0.7967 0.7685 0.9413 0.7545 0.6857 0.9121 0.8253 .  
 i/j 37 38 39 40 41 42 43 44 45  
 46 1.0000 0.9121 0.6589 0.8253 0.8685 0.7967 0.7967 0.7129 0.8830  
 47 0.8685 0.7826 0.7826 0.9560 0.7405 0.6722 0.9267 0.8396 0.9853  
 48 0.9853 0.9267 0.6456 0.8110 0.8830 0.8110 0.7826 0.6992 0.8685  
 i/j 46 47 48  
 1 0.7299 0.8645 0.7154  
 2 0.8614 1.0000 0.8462  
 3 0.9845 0.8767 0.9691  
 4 0.9104 0.9505 0.8951  
 5 0.9969 0.8645 0.9814  
 6 0.7534 0.8889 0.7387  
 7 0.9351 0.9258 0.9197  
 8 0.9351 0.9258 0.9197  
 9 0.9907 0.8523 0.9938  
 10 0.8797 0.7446 0.8951  
 11 0.8920 0.7563 0.9074  
 12 0.9412 0.8039 0.9567  
 13 0.7771 0.9135 0.7622  
 14 0.6838 0.8160 0.6697  
 15 0.9598 0.9012 0.9443  
 16 0.9721 0.8889 0.9567  
 17 0.9845 0.8767 0.9691  
 18 0.9536 0.8160 0.9691  
 19 0.4733 0.5811 0.4621  
 20 0.9413 0.9267 0.9267  
 21 0.7405 0.8685 0.7267  
 22 0.4621 0.5686 0.4510  
 23 0.7967 0.9267 0.7826  
 24 0.7405 0.8685 0.7267  
 25 0.3487 0.4400 0.3393  
 26 0.2187 0.2867 0.2119

27	0.3211	0.4081	0.3123
28	0.3978	0.4963	0.3877
29	0.5080	0.6194	0.4963
30	0.3678	0.4621	0.3582
31	0.8830	0.9853	0.8685
32	0.8685	1.0000	0.8540
33	0.9413	0.8110	0.9560
34	0.9560	0.8253	0.9706
35	0.6722	0.5562	0.6857
36	0.9413	0.8110	0.9560
37	1.0000	0.8685	0.9853
38	0.9121	0.7826	0.9267
39	0.6589	0.7826	0.6456
40	0.8253	0.9560	0.8110
41	0.8685	0.7405	0.8830
42	0.7967	0.6722	0.8110
43	0.7967	0.9267	0.7826
44	0.7129	0.8396	0.6992
45	0.8830	0.9853	0.8685
46	.	0.8685	0.9853
47	0.8685	.	0.8540
48	0.9853	0.8540	.

NOTE: To ensure overall protection level, only probabilities associated with pre-planned comparisons should be used.

ตารางผนวกที่ 7.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติกร่วมกับแบคทีเรียโชนินในการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella Anatum* ในหลอดทดลอง (*in vitro test*) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 – 30 ของการศึกษา

Source	df	SS	MS	F	Pr > F
Treatment	47	0.0371	0.0355	13.16	0.0005
A	1	0.2394	0.0481	14.10	0.0012
B	3	0.0390	0.0069	19.45	0.0511
C	5	0.1492	0.0559	14.18	0.0001
A*B	3	0.0273	0.0381	27.02	0.0039
A*C	5	0.0643	0.2024	16.84	0.0006
B*C	15	0.0348	0.1178	17.00	0.0003
A*B*C	15	0.0502	0.0032	28.45	0.0004
Error					
Corrected					
Total					

C.V. = 4.8244

R-square = 0.0750

Root MSE = 0.2318

หมายเหตุ

A หมายถึง ระดับของสารละลายกรดแลคติก 2 ระดับ คือ 0% และ 1%

B หมายถึง ระดับของสารละลายแบคทีเรียโชนิน 4 ระดับ คือ pediocin PA – 1 0 AU/ml pediocin PA – 1 320 AU/ml pediocin PA – 1 640 AU/ml และ pediocin PA – 1 1280 AU/ml

C หมายถึงระยะเวลาที่ทำการศึกษาคือ 0 6 12 18 24 และ 30 ชั่วโมง

ตารางผนวกที่ 7.4 แสดงค่า Least Squares Means และการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติก ระดับความเข้มข้นของสารละลายแบคทีเรียโอสตินและระยะเวลา ต่อการลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Anatum ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

General Linear Models Procedure

Least Squares Means

Least Squares Means for effect LAC\*BAC\*TIME

Pr > |T| H0: LSMEAN(i)=LSMEAN(j)

Dependent Variable: COUNTS

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	.	0.8563	0.7297	0.8050	0.7173	0.9737	0.7797	0.7797	0.7051
2	0.8563	.	0.8693	0.9475	0.8563	0.8822	0.9213	0.9213	0.8434
3	0.7297	0.8693	.	0.9213	0.9869	0.7545	0.9475	0.9475	0.9737
4	0.8050	0.9475	0.9213	.	0.9083	0.8306	0.9737	0.9737	0.8953
5	0.7173	0.8563	0.9869	0.9083	.	0.7421	0.9344	0.9344	0.9869
6	0.9737	0.8822	0.7545	0.8306	0.7421	.	0.8050	0.8050	0.7297
7	0.7797	0.9213	0.9475	0.9737	0.9344	0.8050	.	1.0000	0.9213
8	0.7797	0.9213	0.9475	0.9737	0.9344	0.8050	1.0000	.	0.9213
9	0.7051	0.8434	0.9737	0.8953	0.9869	0.7297	0.9213	0.9213	.
i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10	0.5986	0.7297	0.8563	0.7797	0.8693	0.6216	0.8050	0.8050	0.8822
11	0.6100	0.7421	0.8693	0.7923	0.8822	0.6333	0.8178	0.8178	0.8953
12	0.6569	0.7923	0.9213	0.8434	0.9344	0.6808	0.8693	0.8693	0.9475
13	0.9475	0.9083	0.7797	0.8563	0.7671	0.9737	0.8306	0.8306	0.7545
14	0.9475	0.8050	0.6808	0.7545	0.6688	0.9213	0.7297	0.7297	0.6569
15	0.7545	0.8953	0.9737	0.9475	0.9606	0.7797	0.9737	0.9737	0.9475
16	0.7421	0.8822	0.9869	0.9344	0.9737	0.7671	0.9606	0.9606	0.9606
17	0.7297	0.8693	1.0000	0.9213	0.9869	0.7545	0.9475	0.9475	0.9737
18	0.6688	0.8050	0.9344	0.8563	0.9475	0.6929	0.8822	0.8822	0.9606
i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
19	0.6810	0.5608	0.4615	0.5199	0.4521	0.6584	0.5000	0.5000	0.4428
20	0.7890	0.9227	0.9536	0.9721	0.9412	0.8130	0.9969	0.9969	0.9289
21	0.9969	0.8614	0.7416	0.8130	0.7299	0.9721	0.7890	0.7890	0.7183

22	0.6668	0.5479	0.4498	0.5074	0.4405	0.6445	0.4878	0.4878	0.4314
23	0.9412	0.9227	0.8009	0.8736	0.7890	0.9660	0.8493	0.8493	0.7771
24	0.9969	0.8614	0.7416	0.8130	0.7299	0.9721	0.7890	0.7890	0.7183
25	0.5199	0.4158	0.3328	0.3812	0.3252	0.5000	0.3646	0.3646	0.3176
26	0.3406	0.2615	0.2016	0.2362	0.1962	0.3252	0.2242	0.2242	0.1910
27	0.4829	0.3833	0.3047	0.3505	0.2975	0.4638	0.3348	0.3348	0.2904
<i>i/j</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9
28	0.5846	0.4733	0.3833	0.4360	0.3749	0.5635	0.4180	0.4180	0.3667
29	0.7241	0.6006	0.4975	0.5582	0.4878	0.7010	0.5376	0.5376	0.4781
30	0.5453	0.4383	0.3525	0.4026	0.3445	0.5249	0.3854	0.3854	0.3367
31	0.8493	0.9845	0.8920	0.9660	0.8797	0.8736	0.9412	0.9412	0.8675
32	0.8645	1.0000	0.8767	0.9505	0.8645	0.8889	0.9258	0.9258	0.8523
33	0.6725	0.8009	0.9227	0.8493	0.9351	0.6953	0.8736	0.8736	0.9474
34	0.6867	0.8160	0.9382	0.8645	0.9505	0.7096	0.8889	0.8889	0.9629
35	0.4292	0.5350	0.6417	0.5766	0.6528	0.4475	0.5979	0.5979	0.6640
36	0.6725	0.8009	0.9227	0.8493	0.9351	0.6953	0.8736	0.8736	0.9474
<i>i/j</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9
37	0.7299	0.8614	0.9845	0.9104	0.9969	0.7534	0.9351	0.9351	0.9907
38	0.6445	0.7711	0.8920	0.8190	0.9043	0.6668	0.8432	0.8432	0.9166
39	0.9043	0.7711	0.6556	0.7241	0.6445	0.8797	0.7010	0.7010	0.6334
40	0.9104	0.9536	0.8311	0.9043	0.8190	0.9351	0.8797	0.8797	0.8069
41	0.6033	0.7270	0.8462	0.7741	0.8584	0.6251	0.7979	0.7979	0.8706
42	0.5376	0.6556	0.7711	0.7010	0.7830	0.5582	0.7241	0.7241	0.7950
43	0.9412	0.9227	0.8009	0.8736	0.7890	0.9660	0.8493	0.8493	0.7771
44	0.9660	0.8311	0.7125	0.7830	0.7010	0.9412	0.7593	0.7593	0.6895
45	0.8493	0.9845	0.8920	0.9660	0.8797	0.8736	0.9412	0.9412	0.8675
<i>i/j</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9
46	0.7299	0.8614	0.9845	0.9104	0.9969	0.7534	0.9351	0.9351	0.9907
47	0.8645	1.0000	0.8767	0.9505	0.8645	0.8889	0.9258	0.9258	0.8523
48	0.7154	0.8462	0.9691	0.8951	0.9814	0.7387	0.9197	0.9197	0.9938
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	0.5986	0.6100	0.6569	0.9475	0.9475	0.7545	0.7421	0.7297	0.6688
2	0.7297	0.7421	0.7923	0.9083	0.8050	0.8953	0.8822	0.8693	0.8050
3	0.8563	0.8693	0.9213	0.7797	0.6808	0.9737	0.9869	1.0000	0.9344
4	0.7797	0.7923	0.8434	0.8563	0.7545	0.9475	0.9344	0.9213	0.8563

5	0.8693	0.8822	0.9344	0.7671	0.6688	0.9606	0.9737	0.9869	0.9475
6	0.6216	0.6333	0.6808	0.9737	0.9213	0.7797	0.7671	0.7545	0.6929
7	0.8050	0.8178	0.8693	0.8306	0.7297	0.9737	0.9606	0.9475	0.8822
8	0.8050	0.8178	0.8693	0.8306	0.7297	0.9737	0.9606	0.9475	0.8822
9	0.8822	0.8953	0.9475	0.7545	0.6569	0.9475	0.9606	0.9737	0.9606
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
10	.	0.9869	0.9344	0.6450	0.5537	0.8306	0.8434	0.8563	0.9213
11	0.9869	.	0.9475	0.6569	0.5648	0.8434	0.8563	0.8693	0.9344
12	0.9344	0.9475	.	0.7051	0.6100	0.8953	0.9083	0.9213	0.9869
13	0.6450	0.6569	0.7051	.	0.8953	0.8050	0.7923	0.7797	0.7173
14	0.5537	0.5648	0.6100	0.8953	.	0.7051	0.6929	0.6808	0.6216
15	0.8306	0.8434	0.8953	0.8050	0.7051	.	0.9869	0.9737	0.9083
16	0.8434	0.8563	0.9083	0.7923	0.6929	0.9869	.	0.9869	0.9213
17	0.8563	0.8693	0.9213	0.7797	0.6808	0.9737	0.9869	.	0.9344
18	0.9213	0.9344	0.9869	0.7173	0.6216	0.9083	0.9213	0.9344	.
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
19	0.3646	0.3729	0.4069	0.6361	0.7270	0.4805	0.4709	0.4615	0.4158
20	0.8190	0.8311	0.8797	0.8371	0.7416	0.9783	0.9660	0.9536	0.8920
21	0.6169	0.6279	0.6725	0.9474	0.9536	0.7652	0.7534	0.7416	0.6838
22	0.3545	0.3626	0.3961	0.6224	0.7125	0.4686	0.4591	0.4498	0.4048
23	0.6725	0.6838	0.7299	0.9907	0.8920	0.8250	0.8130	0.8009	0.7416
24	0.6169	0.6279	0.6725	0.9474	0.9536	0.7652	0.7534	0.7416	0.6838
25	0.2550	0.2615	0.2887	0.4805	0.5608	0.3485	0.3406	0.3328	0.2957
26	0.1481	0.1525	0.1709	0.3102	0.3729	0.2127	0.2071	0.2016	0.1758
27	0.2317	0.2377	0.2632	0.4451	0.5224	0.3195	0.3121	0.3047	0.2698
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
28	0.2975	0.3047	0.3348	0.5427	0.6279	0.4004	0.3918	0.3833	0.3426
29	0.3961	0.4048	0.4405	0.6782	0.7711	0.5174	0.5074	0.4975	0.4498
30	0.2715	0.2783	0.3066	0.5049	0.5872	0.3687	0.3605	0.3525	0.3139
31	0.7593	0.7711	0.8190	0.8981	0.8009	0.9166	0.9043	0.8920	0.8311
32	0.7446	0.7563	0.8039	0.9135	0.8160	0.9012	0.8889	0.8767	0.8160
33	0.9412	0.9536	0.9969	0.7183	0.6279	0.8981	0.9104	0.9227	0.9845
34	0.9258	0.9382	0.9876	0.7329	0.6417	0.9135	0.9258	0.9382	1.0000
35	0.7682	0.7563	0.7096	0.4662	0.3939	0.6196	0.6306	0.6417	0.6981
36	0.9412	0.9536	0.9969	0.7183	0.6279	0.8981	0.9104	0.9227	0.9845

<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
37	0.8797	0.8920	0.9412	0.7771	0.6838	0.9598	0.9721	0.9845	0.9536
38	0.9721	0.9845	0.9660	0.6895	0.6006	0.8675	0.8797	0.8920	0.9536
39	0.5376	0.5479	0.5899	0.8553	0.9536	0.6782	0.6668	0.6556	0.6006
40	0.7010	0.7125	0.7593	0.9598	0.8614	0.8553	0.8432	0.8311	0.7711
41	0.9814	0.9691	0.9197	0.6472	0.5608	0.8220	0.8341	0.8462	0.9074
42	0.9043	0.8920	0.8432	0.5793	0.4975	0.7475	0.7593	0.7711	0.8311
43	0.6725	0.6838	0.7299	0.9907	0.8920	0.8250	0.8130	0.8009	0.7416
44	0.5899	0.6006	0.6445	0.9166	0.9845	0.7358	0.7241	0.7125	0.6556
45	0.7593	0.7711	0.8190	0.8981	0.8009	0.9166	0.9043	0.8920	0.8311
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
46	0.8797	0.8920	0.9412	0.7771	0.6838	0.9598	0.9721	0.9845	0.9536
47	0.7446	0.7563	0.8039	0.9135	0.8160	0.9012	0.8889	0.8767	0.8160
48	0.8951	0.9074	0.9567	0.7622	0.6697	0.9443	0.9567	0.9691	0.9691
<i>i/j</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
1	0.6810	0.7890	0.9969	0.6668	0.9412	0.9969	0.5199	0.3406	0.4829
2	0.5608	0.9227	0.8614	0.5479	0.9227	0.8614	0.4158	0.2615	0.3833
3	0.4615	0.9536	0.7416	0.4498	0.8009	0.7416	0.3328	0.2016	0.3047
4	0.5199	0.9721	0.8130	0.5074	0.8736	0.8130	0.3812	0.2362	0.3505
5	0.4521	0.9412	0.7299	0.4405	0.7890	0.7299	0.3252	0.1962	0.2975
6	0.6584	0.8130	0.9721	0.6445	0.9660	0.9721	0.5000	0.3252	0.4638
7	0.5000	0.9969	0.7890	0.4878	0.8493	0.7890	0.3646	0.2242	0.3348
8	0.5000	0.9969	0.7890	0.4878	0.8493	0.7890	0.3646	0.2242	0.3348
9	0.4428	0.9289	0.7183	0.4314	0.7771	0.7183	0.3176	0.1910	0.2904
<i>i/j</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
10	0.3646	0.8190	0.6169	0.3545	0.6725	0.6169	0.2550	0.1481	0.2317
11	0.3729	0.8311	0.6279	0.3626	0.6838	0.6279	0.2615	0.1525	0.2377
12	0.4069	0.8797	0.6725	0.3961	0.7299	0.6725	0.2887	0.1709	0.2632
13	0.6361	0.8371	0.9474	0.6224	0.9907	0.9474	0.4805	0.3102	0.4451
14	0.7270	0.7416	0.9536	0.7125	0.8920	0.9536	0.5608	0.3729	0.5224
15	0.4805	0.9783	0.7652	0.4686	0.8250	0.7652	0.3485	0.2127	0.3195
16	0.4709	0.9660	0.7534	0.4591	0.8130	0.7534	0.3406	0.2071	0.3121
17	0.4615	0.9536	0.7416	0.4498	0.8009	0.7416	0.3328	0.2016	0.3047
18	0.4158	0.8920	0.6838	0.4048	0.7416	0.6838	0.2957	0.1758	0.2698
<i>i/j</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27

19 . 0.5198 0.6992 0.9853 0.6456 0.6992 0.8253 0.6065 0.7826  
 20 0.5198 . 0.7967 0.5080 0.8540 0.7967 0.3877 0.2473 0.3582  
 21 0.6992 0.7967 . 0.6857 0.9413 1.0000 0.5439 0.3678 0.5080  
 22 0.9853 0.5080 0.6857 . 0.6325 0.6857 0.8396 0.6194 0.7967  
 23 0.6456 0.8540 0.9413 0.6325 . 0.9413 0.4963 0.3301 0.4621  
 24 0.6992 0.7967 1.0000 0.6857 0.9413 . 0.5439 0.3678 0.5080  
 25 0.8253 0.3877 0.5439 0.8396 0.4963 0.5439 . 0.7685 0.9560  
 26 0.6065 0.2473 0.3678 0.6194 0.3301 0.3678 0.7685 . 0.8110  
 27 0.7826 0.3582 0.5080 0.7967 0.4621 0.5080 0.9560 0.8110 .  
 i/j 19 20 21 22 23 24 25 26 27  
 28 0.8975 0.4400 0.6065 0.9121 0.5562 0.6065 0.9267 0.6992 0.8830  
 29 0.9560 0.5562 0.7405 0.9413 0.6857 0.7405 0.7826 0.5686 0.7405  
 30 0.8540 0.4081 0.5686 0.8685 0.5198 0.5686 0.9706 0.7405 0.9267  
 31 0.5686 0.9413 0.8540 0.5562 0.9121 0.8540 0.4292 0.2785 0.3978  
 32 0.5811 0.9267 0.8685 0.5686 0.9267 0.8685 0.4400 0.2867 0.4081  
 33 0.4292 0.8830 0.6857 0.4186 0.7405 0.6857 0.3123 0.1926 0.2867  
 34 0.4400 0.8975 0.6992 0.4292 0.7545 0.6992 0.3211 0.1989 0.2951  
 35 0.2549 0.6194 0.4510 0.2473 0.4963 0.4510 0.1745 0.0991 0.1578  
 36 0.4292 0.8830 0.6857 0.4186 0.7405 0.6857 0.3123 0.1926 0.2867  
 i/j 19 20 21 22 23 24 25 26 27  
 37 0.4733 0.9413 0.7405 0.4621 0.7967 0.7405 0.3487 0.2187 0.3211  
 38 0.4081 0.8540 0.6589 0.3978 0.7129 0.6589 0.2951 0.1804 0.2705  
 39 0.7826 0.7129 0.9121 0.7685 0.8540 0.9121 0.6194 0.4292 0.5811  
 40 0.6194 0.8830 0.9121 0.6065 0.9706 0.9121 0.4733 0.3123 0.4400  
 41 0.3777 0.8110 0.6194 0.3678 0.6722 0.6194 0.2705 0.1632 0.2473  
 42 0.3301 0.7405 0.5562 0.3211 0.6065 0.5562 0.2327 0.1374 0.2119  
 43 0.6456 0.8540 0.9413 0.6325 1.0000 0.9413 0.4963 0.3301 0.4621  
 44 0.7267 0.7685 0.9706 0.7129 0.9121 0.9706 0.5686 0.3877 0.5318  
 45 0.5686 0.9413 0.8540 0.5562 0.9121 0.8540 0.4292 0.2785 0.3978  
 i/j 19 20 21 22 23 24 25 26 27  
 46 0.4733 0.9413 0.7405 0.4621 0.7967 0.7405 0.3487 0.2187 0.3211  
 47 0.5811 0.9267 0.8685 0.5686 0.9267 0.8685 0.4400 0.2867 0.4081  
 48 0.4621 0.9267 0.7267 0.4510 0.7826 0.7267 0.3393 0.2119 0.3123  
 i/j 28 29 30 31 32 33 34 35 36  
 1 0.5846 0.7241 0.5453 0.8493 0.8645 0.6725 0.6867 0.4292 0.6725

2	0.4733	0.6006	0.4383	0.9845	1.0000	0.8009	0.8160	0.5350	0.8009
3	0.3833	0.4975	0.3525	0.8920	0.8767	0.9227	0.9382	0.6417	0.9227
4	0.4360	0.5582	0.4026	0.9660	0.9505	0.8493	0.8645	0.5766	0.8493
5	0.3749	0.4878	0.3445	0.8797	0.8645	0.9351	0.9505	0.6528	0.9351
6	0.5635	0.7010	0.5249	0.8736	0.8889	0.6953	0.7096	0.4475	0.6953
7	0.4180	0.5376	0.3854	0.9412	0.9258	0.8736	0.8889	0.5979	0.8736
8	0.4180	0.5376	0.3854	0.9412	0.9258	0.8736	0.8889	0.5979	0.8736
9	0.3667	0.4781	0.3367	0.8675	0.8523	0.9474	0.9629	0.6640	0.9474
<i>i/j</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
10	0.2975	0.3961	0.2715	0.7593	0.7446	0.9412	0.9258	0.7682	0.9412
11	0.3047	0.4048	0.2783	0.7711	0.7563	0.9536	0.9382	0.7563	0.9536
12	0.3348	0.4405	0.3066	0.8190	0.8039	0.9969	0.9876	0.7096	0.9969
13	0.5427	0.6782	0.5049	0.8981	0.9135	0.7183	0.7329	0.4662	0.7183
14	0.6279	0.7711	0.5872	0.8009	0.8160	0.6279	0.6417	0.3939	0.6279
15	0.4004	0.5174	0.3687	0.9166	0.9012	0.8981	0.9135	0.6196	0.8981
16	0.3918	0.5074	0.3605	0.9043	0.8889	0.9104	0.9258	0.6306	0.9104
17	0.3833	0.4975	0.3525	0.8920	0.8767	0.9227	0.9382	0.6417	0.9227
18	0.3426	0.4498	0.3139	0.8311	0.8160	0.9845	1.0000	0.6981	0.9845
<i>i/j</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
19	0.8975	0.9560	0.8540	0.5686	0.5811	0.4292	0.4400	0.2549	0.4292
20	0.4400	0.5562	0.4081	0.9413	0.9267	0.8830	0.8975	0.6194	0.8830
21	0.6065	0.7405	0.5686	0.8540	0.8685	0.6857	0.6992	0.4510	0.6857
22	0.9121	0.9413	0.8685	0.5562	0.5686	0.4186	0.4292	0.2473	0.4186
23	0.5562	0.6857	0.5198	0.9121	0.9267	0.7405	0.7545	0.4963	0.7405
24	0.6065	0.7405	0.5686	0.8540	0.8685	0.6857	0.6992	0.4510	0.6857
25	0.9267	0.7826	0.9706	0.4292	0.4400	0.3123	0.3211	0.1745	0.3123
26	0.6992	0.5686	0.7405	0.2785	0.2867	0.1926	0.1989	0.0991	0.1926
27	0.8830	0.7405	0.9267	0.3978	0.4081	0.2867	0.2951	0.1578	0.2867
<i>i/j</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
28	.	0.8540	0.9560	0.4847	0.4963	0.3582	0.3678	0.2053	0.3582
29	0.8540	.	0.8110	0.6065	0.6194	0.4621	0.4733	0.2785	0.4621
30	0.9560	0.8110	.	0.4510	0.4621	0.3301	0.3393	0.1864	0.3301
31	0.4847	0.6065	0.4510	.	0.9853	0.8253	0.8396	0.5686	0.8253
32	0.4963	0.6194	0.4621	0.9853	.	0.8110	0.8253	0.5562	0.8110
33	0.3582	0.4621	0.3301	0.8253	0.8110	.	0.9853	0.7267	1.0000

34	0.3678	0.4733	0.3393	0.8396	0.8253	0.9853	.	0.7129	0.9853
35	0.2053	0.2785	0.1864	0.5686	0.5562	0.7267	0.7129	.	0.7267
36	0.3582	0.4621	0.3301	0.8253	0.8110	1.0000	0.9853	0.7267	.
<i>i/j</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
37	0.3978	0.5080	0.3678	0.8830	0.8685	0.9413	0.9560	0.6722	0.9413
38	0.3393	0.4400	0.3123	0.7967	0.7826	0.9706	0.9560	0.7545	0.9706
39	0.6857	0.8253	0.6456	0.7685	0.7826	0.6065	0.6194	0.3877	0.6065
40	0.5318	0.6589	0.4963	0.9413	0.9560	0.7685	0.7826	0.5198	0.7685
41	0.3123	0.4081	0.2867	0.7545	0.7405	0.9267	0.9121	0.7967	0.9267
42	0.2705	0.3582	0.2473	0.6857	0.6722	0.8540	0.8396	0.8685	0.8540
43	0.5562	0.6857	0.5198	0.9121	0.9267	0.7405	0.7545	0.4963	0.7405
44	0.6325	0.7685	0.5938	0.8253	0.8396	0.6589	0.6722	0.4292	0.6589
45	0.4847	0.6065	0.4510	1.0000	0.9853	0.8253	0.8396	0.5686	0.8253
<i>i/j</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
46	0.3978	0.5080	0.3678	0.8830	0.8685	0.9413	0.9560	0.6722	0.9413
47	0.4963	0.6194	0.4621	0.9853	1.0000	0.8110	0.8253	0.5562	0.8110
48	0.3877	0.4963	0.3582	0.8685	0.8540	0.9560	0.9706	0.6857	0.9560
<i>i/j</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
1	0.7299	0.6445	0.9043	0.9104	0.6033	0.5376	0.9412	0.9660	0.8493
2	0.8614	0.7711	0.7711	0.9536	0.7270	0.6556	0.9227	0.8311	0.9845
3	0.9845	0.8920	0.6556	0.8311	0.8462	0.7711	0.8009	0.7125	0.8920
4	0.9104	0.8190	0.7241	0.9043	0.7741	0.7010	0.8736	0.7830	0.9660
5	0.9969	0.9043	0.6445	0.8190	0.8584	0.7830	0.7890	0.7010	0.8797
6	0.7534	0.6668	0.8797	0.9351	0.6251	0.5582	0.9660	0.9412	0.8736
7	0.9351	0.8432	0.7010	0.8797	0.7979	0.7241	0.8493	0.7593	0.9412
8	0.9351	0.8432	0.7010	0.8797	0.7979	0.7241	0.8493	0.7593	0.9412
9	0.9907	0.9166	0.6334	0.8069	0.8706	0.7950	0.7771	0.6895	0.8675
<i>i/j</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
10	0.8797	0.9721	0.5376	0.7010	0.9814	0.9043	0.6725	0.5899	0.7593
11	0.8920	0.9845	0.5479	0.7125	0.9691	0.8920	0.6838	0.6006	0.7711
12	0.9412	0.9660	0.5899	0.7593	0.9197	0.8432	0.7299	0.6445	0.8190
13	0.7771	0.6895	0.8553	0.9598	0.6472	0.5793	0.9907	0.9166	0.8981
14	0.6838	0.6006	0.9536	0.8614	0.5608	0.4975	0.8920	0.9845	0.8009
15	0.9598	0.8675	0.6782	0.8553	0.8220	0.7475	0.8250	0.7358	0.9166
16	0.9721	0.8797	0.6668	0.8432	0.8341	0.7593	0.8130	0.7241	0.9043

17	0.9845	0.8920	0.6556	0.8311	0.8462	0.7711	0.8009	0.7125	0.8920
18	0.9536	0.9536	0.6006	0.7711	0.9074	0.8311	0.7416	0.6556	0.8311
<i>i/j</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
19	0.4733	0.4081	0.7826	0.6194	0.3777	0.3301	0.6456	0.7267	0.5686
20	0.9413	0.8540	0.7129	0.8830	0.8110	0.7405	0.8540	0.7685	0.9413
21	0.7405	0.6589	0.9121	0.9121	0.6194	0.5562	0.9413	0.9706	0.8540
22	0.4621	0.3978	0.7685	0.6065	0.3678	0.3211	0.6325	0.7129	0.5562
23	0.7967	0.7129	0.8540	0.9706	0.6722	0.6065	1.0000	0.9121	0.9121
24	0.7405	0.6589	0.9121	0.9121	0.6194	0.5562	0.9413	0.9706	0.8540
25	0.3487	0.2951	0.6194	0.4733	0.2705	0.2327	0.4963	0.5686	0.4292
26	0.2187	0.1804	0.4292	0.3123	0.1632	0.1374	0.3301	0.3877	0.2785
27	0.3211	0.2705	0.5811	0.4400	0.2473	0.2119	0.4621	0.5318	0.3978
<i>i/j</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
28	0.3978	0.3393	0.6857	0.5318	0.3123	0.2705	0.5562	0.6325	0.4847
29	0.5080	0.4400	0.8253	0.6589	0.4081	0.3582	0.6857	0.7685	0.6065
30	0.3678	0.3123	0.6456	0.4963	0.2867	0.2473	0.5198	0.5938	0.4510
31	0.8830	0.7967	0.7685	0.9413	0.7545	0.6857	0.9121	0.8253	1.0000
32	0.8685	0.7826	0.7826	0.9560	0.7405	0.6722	0.9267	0.8396	0.9853
33	0.9413	0.9706	0.6065	0.7685	0.9267	0.8540	0.7405	0.6589	0.8253
34	0.9560	0.9560	0.6194	0.7826	0.9121	0.8396	0.7545	0.6722	0.8396
35	0.6722	0.7545	0.3877	0.5198	0.7967	0.8685	0.4963	0.4292	0.5686
36	0.9413	0.9706	0.6065	0.7685	0.9267	0.8540	0.7405	0.6589	0.8253
<i>i/j</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
37	.	0.9121	0.6589	0.8253	0.8685	0.7967	0.7967	0.7129	0.8830
38	0.9121	.	0.5811	0.7405	0.9560	0.8830	0.7129	0.6325	0.7967
39	0.6589	0.5811	.	0.8253	0.5439	0.4847	0.8540	0.9413	0.7685
40	0.8253	0.7405	0.8253	.	0.6992	0.6325	0.9706	0.8830	0.9413
41	0.8685	0.9560	0.5439	0.6992	.	0.9267	0.6722	0.5938	0.7545
42	0.7967	0.8830	0.4847	0.6325	0.9267	.	0.6065	0.5318	0.6857
43	0.7967	0.7129	0.8540	0.9706	0.6722	0.6065	.	0.9121	0.9121
44	0.7129	0.6325	0.9413	0.8830	0.5938	0.5318	0.9121	.	0.8253
45	0.8830	0.7967	0.7685	0.9413	0.7545	0.6857	0.9121	0.8253	.
<i>i/j</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
46	1.0000	0.9121	0.6589	0.8253	0.8685	0.7967	0.7967	0.7129	0.8830
47	0.8685	0.7826	0.7826	0.9560	0.7405	0.6722	0.9267	0.8396	0.9853

48	0.9853	0.9267	0.6456	0.8110	0.8830	0.8110	0.7826	0.6992	0.8685
<i>i/j</i>	46	47	48						
1	0.7299	0.8645	0.7154						
2	0.8614	1.0000	0.8462						
3	0.9845	0.8767	0.9691						
4	0.9104	0.9505	0.8951						
5	0.9969	0.8645	0.9814						
6	0.7534	0.8889	0.7387						
7	0.9351	0.9258	0.9197						
8	0.9351	0.9258	0.9197						
9	0.9907	0.8523	0.9938						
10	0.8797	0.7446	0.8951						
11	0.8920	0.7563	0.9074						
12	0.9412	0.8039	0.9567						
13	0.7771	0.9135	0.7622						
14	0.6838	0.8160	0.6697						
15	0.9598	0.9012	0.9443						
16	0.9721	0.8889	0.9567						
17	0.9845	0.8767	0.9691						
18	0.9536	0.8160	0.9691						
19	0.4733	0.5811	0.4621						
20	0.9413	0.9267	0.9267						
21	0.7405	0.8685	0.7267						
22	0.4621	0.5686	0.4510						
23	0.7967	0.9267	0.7826						
24	0.7405	0.8685	0.7267						
25	0.3487	0.4400	0.3393						
26	0.2187	0.2867	0.2119						
27	0.3211	0.4081	0.3123						
28	0.3978	0.4963	0.3877						
29	0.5080	0.6194	0.4963						
30	0.3678	0.4621	0.3582						
31	0.8830	0.9853	0.8685						
32	0.8685	1.0000	0.8540						
33	0.9413	0.8110	0.9560						

34	0.9560	0.8253	0.9706
35	0.6722	0.5562	0.6857
36	0.9413	0.8110	0.9560
37	1.0000	0.8685	0.9853
38	0.9121	0.7826	0.9267
39	0.6589	0.7826	0.6456
40	0.8253	0.9560	0.8110
41	0.8685	0.7405	0.8830
42	0.7967	0.6722	0.8110
43	0.7967	0.9267	0.7826
44	0.7129	0.8396	0.6992
45	0.8830	0.9853	0.8685
46	.	0.8685	0.9853
47	0.8685	.	0.8540
48	0.9853	0.8540	.

NOTE: To ensure overall protection level, only probabilities associated with pre-planned comparisons should be used.

ตารางผนวกที่ 7.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโชนินในการลดปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 – 30 ของการศึกษา

Source	df	SS	MS	F	Pr > F
Treatment	47	0.0367	0.0326	16.41	0.0005
A	1	0.0741	0.1205	13.45	0.0478
B	3	0.0452	0.0956	19.21	0.0311
C	5	0.0364	0.5923	14.15	0.0486
A*B	3	0.0435	0.1093	15.20	0.0266
A*C	5	0.0310	0.2305	18.19	0.0301
B*C	15	0.0482	0.2046	16.11	0.0415
A*B*C	15	0.0236	0.3103	27.65	0.0174
Error					
Corrected					
Total					

C.V. = 6.4217

R- square = 0.0652

Root MSE = 0.3451

หมายเหตุ

A หมายถึง ระดับของสารละลายกรดแลคติก 2 ระดับ คือ 0% และ 1%

B หมายถึง ระดับของสารละลายแบคทีเรียโชนิน 4 ระดับ คือ pediocin PA – 1 0 AU/ml pediocin PA – 1 320 AU/ml pediocin PA – 1 640 AU/ml และ pediocin PA – 1 1280 AU/ml

C หมายถึงระยะเวลาที่ทำการศึกษา คือ 0 6 12 18 24 และ 30 ชั่วโมง

ตารางผนวกที่ 7.6 แสดงค่า Least Squares Means และการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติก ระดับความเข้มข้นของสารละลายแบคทีเรียโอสลินและระยะเวลาต่อการลดปริมาณเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในหลอดทดลอง (*in vitro* test)

General Linear Models Procedure

Least Squares Means

Least Squares Means for effect LAC\*BAC\*TIME

Pr > |T| H0: LSMEAN(i)=LSMEAN(j)

Dependent Variable: COUNTS

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	.	0.8563	0.7297	0.8050	0.7173	0.9737	0.7797	0.7797	0.7051
2	0.8563	.	0.8693	0.9475	0.8563	0.8822	0.9213	0.9213	0.8434
3	0.7297	0.8693	.	0.9213	0.9869	0.7545	0.9475	0.9475	0.9737
4	0.8050	0.9475	0.9213	.	0.9083	0.8306	0.9737	0.9737	0.8953
5	0.7173	0.8563	0.9869	0.9083	.	0.7421	0.9344	0.9344	0.9869
6	0.9737	0.8822	0.7545	0.8306	0.7421	.	0.8050	0.8050	0.7297
7	0.7797	0.9213	0.9475	0.9737	0.9344	0.8050	.	1.0000	0.9213
8	0.7797	0.9213	0.9475	0.9737	0.9344	0.8050	1.0000	.	0.9213
9	0.7051	0.8434	0.9737	0.8953	0.9869	0.7297	0.9213	0.9213	.
i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10	0.5986	0.7297	0.8563	0.7797	0.8693	0.6216	0.8050	0.8050	0.8822
11	0.6100	0.7421	0.8693	0.7923	0.8822	0.6333	0.8178	0.8178	0.8953
12	0.6569	0.7923	0.9213	0.8434	0.9344	0.6808	0.8693	0.8693	0.9475
13	0.9475	0.9083	0.7797	0.8563	0.7671	0.9737	0.8306	0.8306	0.7545
14	0.9475	0.8050	0.6808	0.7545	0.6688	0.9213	0.7297	0.7297	0.6569
15	0.7545	0.8953	0.9737	0.9475	0.9606	0.7797	0.9737	0.9737	0.9475
16	0.7421	0.8822	0.9869	0.9344	0.9737	0.7671	0.9606	0.9606	0.9606
17	0.7297	0.8693	1.0000	0.9213	0.9869	0.7545	0.9475	0.9475	0.9737
18	0.6688	0.8050	0.9344	0.8563	0.9475	0.6929	0.8822	0.8822	0.9606
i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
19	0.6810	0.5608	0.4615	0.5199	0.4521	0.6584	0.5000	0.5000	0.4428
20	0.7890	0.9227	0.9536	0.9721	0.9412	0.8130	0.9969	0.9969	0.9289
21	0.9969	0.8614	0.7416	0.8130	0.7299	0.9721	0.7890	0.7890	0.7183

22 0.6668 0.5479 0.4498 0.5074 0.4405 0.6445 0.4878 0.4878 0.4314  
 23 0.9412 0.9227 0.8009 0.8736 0.7890 0.9660 0.8493 0.8493 0.7771  
 24 0.9969 0.8614 0.7416 0.8130 0.7299 0.9721 0.7890 0.7890 0.7183  
 25 0.5199 0.4158 0.3328 0.3812 0.3252 0.5000 0.3646 0.3646 0.3176  
 26 0.3406 0.2615 0.2016 0.2362 0.1962 0.3252 0.2242 0.2242 0.1910  
 27 0.4829 0.3833 0.3047 0.3505 0.2975 0.4638 0.3348 0.3348 0.2904  
 i/j 1 2 3 4 5 6 7 8 9

28 0.5846 0.4733 0.3833 0.4360 0.3749 0.5635 0.4180 0.4180 0.3667  
 29 0.7241 0.6006 0.4975 0.5582 0.4878 0.7010 0.5376 0.5376 0.4781  
 30 0.5453 0.4383 0.3525 0.4026 0.3445 0.5249 0.3854 0.3854 0.3367  
 31 0.8493 0.9845 0.8920 0.9660 0.8797 0.8736 0.9412 0.9412 0.8675  
 32 0.8645 1.0000 0.8767 0.9505 0.8645 0.8889 0.9258 0.9258 0.8523  
 33 0.6725 0.8009 0.9227 0.8493 0.9351 0.6953 0.8736 0.8736 0.9474  
 34 0.6867 0.8160 0.9382 0.8645 0.9505 0.7096 0.8889 0.8889 0.9629  
 35 0.4292 0.5350 0.6417 0.5766 0.6528 0.4475 0.5979 0.5979 0.6640  
 36 0.6725 0.8009 0.9227 0.8493 0.9351 0.6953 0.8736 0.8736 0.9474  
 i/j 1 2 3 4 5 6 7 8 9

37 0.7299 0.8614 0.9845 0.9104 0.9969 0.7534 0.9351 0.9351 0.9907  
 38 0.6445 0.7711 0.8920 0.8190 0.9043 0.6668 0.8432 0.8432 0.9166  
 39 0.9043 0.7711 0.6556 0.7241 0.6445 0.8797 0.7010 0.7010 0.6334  
 40 0.9104 0.9536 0.8311 0.9043 0.8190 0.9351 0.8797 0.8797 0.8069  
 41 0.6033 0.7270 0.8462 0.7741 0.8584 0.6251 0.7979 0.7979 0.8706  
 42 0.5376 0.6556 0.7711 0.7010 0.7830 0.5582 0.7241 0.7241 0.7950  
 43 0.9412 0.9227 0.8009 0.8736 0.7890 0.9660 0.8493 0.8493 0.7771  
 44 0.9660 0.8311 0.7125 0.7830 0.7010 0.9412 0.7593 0.7593 0.6895  
 45 0.8493 0.9845 0.8920 0.9660 0.8797 0.8736 0.9412 0.9412 0.8675  
 i/j 1 2 3 4 5 6 7 8 9

46 0.7299 0.8614 0.9845 0.9104 0.9969 0.7534 0.9351 0.9351 0.9907  
 47 0.8645 1.0000 0.8767 0.9505 0.8645 0.8889 0.9258 0.9258 0.8523  
 48 0.7154 0.8462 0.9691 0.8951 0.9814 0.7387 0.9197 0.9197 0.9938  
 i/j 10 11 12 13 14 15 16 17 18

1 0.5986 0.6100 0.6569 0.9475 0.9475 0.7545 0.7421 0.7297 0.6688  
 2 0.7297 0.7421 0.7923 0.9083 0.8050 0.8953 0.8822 0.8693 0.8050  
 3 0.8563 0.8693 0.9213 0.7797 0.6808 0.9737 0.9869 1.0000 0.9344  
 4 0.7797 0.7923 0.8434 0.8563 0.7545 0.9475 0.9344 0.9213 0.8563

5	0.8693	0.8822	0.9344	0.7671	0.6688	0.9606	0.9737	0.9869	0.9475
6	0.6216	0.6333	0.6808	0.9737	0.9213	0.7797	0.7671	0.7545	0.6929
7	0.8050	0.8178	0.8693	0.8306	0.7297	0.9737	0.9606	0.9475	0.8822
8	0.8050	0.8178	0.8693	0.8306	0.7297	0.9737	0.9606	0.9475	0.8822
9	0.8822	0.8953	0.9475	0.7545	0.6569	0.9475	0.9606	0.9737	0.9606
<i>ij</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
10	.	0.9869	0.9344	0.6450	0.5537	0.8306	0.8434	0.8563	0.9213
11	0.9869	.	0.9475	0.6569	0.5648	0.8434	0.8563	0.8693	0.9344
12	0.9344	0.9475	.	0.7051	0.6100	0.8953	0.9083	0.9213	0.9869
13	0.6450	0.6569	0.7051	.	0.8953	0.8050	0.7923	0.7797	0.7173
14	0.5537	0.5648	0.6100	0.8953	.	0.7051	0.6929	0.6808	0.6216
15	0.8306	0.8434	0.8953	0.8050	0.7051	.	0.9869	0.9737	0.9083
16	0.8434	0.8563	0.9083	0.7923	0.6929	0.9869	.	0.9869	0.9213
17	0.8563	0.8693	0.9213	0.7797	0.6808	0.9737	0.9869	.	0.9344
18	0.9213	0.9344	0.9869	0.7173	0.6216	0.9083	0.9213	0.9344	.
<i>ij</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
19	0.3646	0.3729	0.4069	0.6361	0.7270	0.4805	0.4709	0.4615	0.4158
20	0.8190	0.8311	0.8797	0.8371	0.7416	0.9783	0.9660	0.9536	0.8920
21	0.6169	0.6279	0.6725	0.9474	0.9536	0.7652	0.7534	0.7416	0.6838
22	0.3545	0.3626	0.3961	0.6224	0.7125	0.4686	0.4591	0.4498	0.4048
23	0.6725	0.6838	0.7299	0.9907	0.8920	0.8250	0.8130	0.8009	0.7416
24	0.6169	0.6279	0.6725	0.9474	0.9536	0.7652	0.7534	0.7416	0.6838
25	0.2550	0.2615	0.2887	0.4805	0.5608	0.3485	0.3406	0.3328	0.2957
26	0.1481	0.1525	0.1709	0.3102	0.3729	0.2127	0.2071	0.2016	0.1758
27	0.2317	0.2377	0.2632	0.4451	0.5224	0.3195	0.3121	0.3047	0.2698
<i>ij</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
28	0.2975	0.3047	0.3348	0.5427	0.6279	0.4004	0.3918	0.3833	0.3426
29	0.3961	0.4048	0.4405	0.6782	0.7711	0.5174	0.5074	0.4975	0.4498
30	0.2715	0.2783	0.3066	0.5049	0.5872	0.3687	0.3605	0.3525	0.3139
31	0.7593	0.7711	0.8190	0.8981	0.8009	0.9166	0.9043	0.8920	0.8311
32	0.7446	0.7563	0.8039	0.9135	0.8160	0.9012	0.8889	0.8767	0.8160
33	0.9412	0.9536	0.9969	0.7183	0.6279	0.8981	0.9104	0.9227	0.9845
34	0.9258	0.9382	0.9876	0.7329	0.6417	0.9135	0.9258	0.9382	1.0000
35	0.7682	0.7563	0.7096	0.4662	0.3939	0.6196	0.6306	0.6417	0.6981
36	0.9412	0.9536	0.9969	0.7183	0.6279	0.8981	0.9104	0.9227	0.9845

<i>ij</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
37	0.8797	0.8920	0.9412	0.7771	0.6838	0.9598	0.9721	0.9845	0.9536
38	0.9721	0.9845	0.9660	0.6895	0.6006	0.8675	0.8797	0.8920	0.9536
39	0.5376	0.5479	0.5899	0.8553	0.9536	0.6782	0.6668	0.6556	0.6006
40	0.7010	0.7125	0.7593	0.9598	0.8614	0.8553	0.8432	0.8311	0.7711
41	0.9814	0.9691	0.9197	0.6472	0.5608	0.8220	0.8341	0.8462	0.9074
42	0.9043	0.8920	0.8432	0.5793	0.4975	0.7475	0.7593	0.7711	0.8311
43	0.6725	0.6838	0.7299	0.9907	0.8920	0.8250	0.8130	0.8009	0.7416
44	0.5899	0.6006	0.6445	0.9166	0.9845	0.7358	0.7241	0.7125	0.6556
45	0.7593	0.7711	0.8190	0.8981	0.8009	0.9166	0.9043	0.8920	0.8311
<i>ij</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
46	0.8797	0.8920	0.9412	0.7771	0.6838	0.9598	0.9721	0.9845	0.9536
47	0.7446	0.7563	0.8039	0.9135	0.8160	0.9012	0.8889	0.8767	0.8160
48	0.8951	0.9074	0.9567	0.7622	0.6697	0.9443	0.9567	0.9691	0.9691
<i>ij</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
1	0.6810	0.7890	0.9969	0.6668	0.9412	0.9969	0.5199	0.3406	0.4829
2	0.5608	0.9227	0.8614	0.5479	0.9227	0.8614	0.4158	0.2615	0.3833
3	0.4615	0.9536	0.7416	0.4498	0.8009	0.7416	0.3328	0.2016	0.3047
4	0.5199	0.9721	0.8130	0.5074	0.8736	0.8130	0.3812	0.2362	0.3505
5	0.4521	0.9412	0.7299	0.4405	0.7890	0.7299	0.3252	0.1962	0.2975
6	0.6584	0.8130	0.9721	0.6445	0.9660	0.9721	0.5000	0.3252	0.4638
7	0.5000	0.9969	0.7890	0.4878	0.8493	0.7890	0.3646	0.2242	0.3348
8	0.5000	0.9969	0.7890	0.4878	0.8493	0.7890	0.3646	0.2242	0.3348
9	0.4428	0.9289	0.7183	0.4314	0.7771	0.7183	0.3176	0.1910	0.2904
<i>ij</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
10	0.3646	0.8190	0.6169	0.3545	0.6725	0.6169	0.2550	0.1481	0.2317
11	0.3729	0.8311	0.6279	0.3626	0.6838	0.6279	0.2615	0.1525	0.2377
12	0.4069	0.8797	0.6725	0.3961	0.7299	0.6725	0.2887	0.1709	0.2632
13	0.6361	0.8371	0.9474	0.6224	0.9907	0.9474	0.4805	0.3102	0.4451
14	0.7270	0.7416	0.9536	0.7125	0.8920	0.9536	0.5608	0.3729	0.5224
15	0.4805	0.9783	0.7652	0.4686	0.8250	0.7652	0.3485	0.2127	0.3195
16	0.4709	0.9660	0.7534	0.4591	0.8130	0.7534	0.3406	0.2071	0.3121
17	0.4615	0.9536	0.7416	0.4498	0.8009	0.7416	0.3328	0.2016	0.3047
18	0.4158	0.8920	0.6838	0.4048	0.7416	0.6838	0.2957	0.1758	0.2698
<i>ij</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27

19 . 0.5198 0.6992 0.9853 0.6456 0.6992 0.8253 0.6065 0.7826  
 20 0.5198 . 0.7967 0.5080 0.8540 0.7967 0.3877 0.2473 0.3582  
 21 0.6992 0.7967 . 0.6857 0.9413 1.0000 0.5439 0.3678 0.5080  
 22 0.9853 0.5080 0.6857 . 0.6325 0.6857 0.8396 0.6194 0.7967  
 23 0.6456 0.8540 0.9413 0.6325 . 0.9413 0.4963 0.3301 0.4621  
 24 0.6992 0.7967 1.0000 0.6857 0.9413 . 0.5439 0.3678 0.5080  
 25 0.8253 0.3877 0.5439 0.8396 0.4963 0.5439 . 0.7685 0.9560  
 26 0.6065 0.2473 0.3678 0.6194 0.3301 0.3678 0.7685 . 0.8110  
 27 0.7826 0.3582 0.5080 0.7967 0.4621 0.5080 0.9560 0.8110 .  
 i/j 19 20 21 22 23 24 25 26 27  
 28 0.8975 0.4400 0.6065 0.9121 0.5562 0.6065 0.9267 0.6992 0.8830  
 29 0.9560 0.5562 0.7405 0.9413 0.6857 0.7405 0.7826 0.5686 0.7405  
 30 0.8540 0.4081 0.5686 0.8685 0.5198 0.5686 0.9706 0.7405 0.9267  
 31 0.5686 0.9413 0.8540 0.5562 0.9121 0.8540 0.4292 0.2785 0.3978  
 32 0.5811 0.9267 0.8685 0.5686 0.9267 0.8685 0.4400 0.2867 0.4081  
 33 0.4292 0.8830 0.6857 0.4186 0.7405 0.6857 0.3123 0.1926 0.2867  
 34 0.4400 0.8975 0.6992 0.4292 0.7545 0.6992 0.3211 0.1989 0.2951  
 35 0.2549 0.6194 0.4510 0.2473 0.4963 0.4510 0.1745 0.0991 0.1578  
 36 0.4292 0.8830 0.6857 0.4186 0.7405 0.6857 0.3123 0.1926 0.2867  
 i/j 19 20 21 22 23 24 25 26 27  
 37 0.4733 0.9413 0.7405 0.4621 0.7967 0.7405 0.3487 0.2187 0.3211  
 38 0.4081 0.8540 0.6589 0.3978 0.7129 0.6589 0.2951 0.1804 0.2705  
 39 0.7826 0.7129 0.9121 0.7685 0.8540 0.9121 0.6194 0.4292 0.5811  
 40 0.6194 0.8830 0.9121 0.6065 0.9706 0.9121 0.4733 0.3123 0.4400  
 41 0.3777 0.8110 0.6194 0.3678 0.6722 0.6194 0.2705 0.1632 0.2473  
 42 0.3301 0.7405 0.5562 0.3211 0.6065 0.5562 0.2327 0.1374 0.2119  
 43 0.6456 0.8540 0.9413 0.6325 1.0000 0.9413 0.4963 0.3301 0.4621  
 44 0.7267 0.7685 0.9706 0.7129 0.9121 0.9706 0.5686 0.3877 0.5318  
 45 0.5686 0.9413 0.8540 0.5562 0.9121 0.8540 0.4292 0.2785 0.3978  
 i/j 19 20 21 22 23 24 25 26 27  
 46 0.4733 0.9413 0.7405 0.4621 0.7967 0.7405 0.3487 0.2187 0.3211  
 47 0.5811 0.9267 0.8685 0.5686 0.9267 0.8685 0.4400 0.2867 0.4081  
 48 0.4621 0.9267 0.7267 0.4510 0.7826 0.7267 0.3393 0.2119 0.3123  
 i/j 28 29 30 31 32 33 34 35 36  
 1 0.5846 0.7241 0.5453 0.8493 0.8645 0.6725 0.6867 0.4292 0.6725

2	0.4733	0.6006	0.4383	0.9845	1.0000	0.8009	0.8160	0.5350	0.8009
3	0.3833	0.4975	0.3525	0.8920	0.8767	0.9227	0.9382	0.6417	0.9227
4	0.4360	0.5582	0.4026	0.9660	0.9505	0.8493	0.8645	0.5766	0.8493
5	0.3749	0.4878	0.3445	0.8797	0.8645	0.9351	0.9505	0.6528	0.9351
6	0.5635	0.7010	0.5249	0.8736	0.8889	0.6953	0.7096	0.4475	0.6953
7	0.4180	0.5376	0.3854	0.9412	0.9258	0.8736	0.8889	0.5979	0.8736
8	0.4180	0.5376	0.3854	0.9412	0.9258	0.8736	0.8889	0.5979	0.8736
9	0.3667	0.4781	0.3367	0.8675	0.8523	0.9474	0.9629	0.6640	0.9474
<i>i/j</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
10	0.2975	0.3961	0.2715	0.7593	0.7446	0.9412	0.9258	0.7682	0.9412
11	0.3047	0.4048	0.2783	0.7711	0.7563	0.9536	0.9382	0.7563	0.9536
12	0.3348	0.4405	0.3066	0.8190	0.8039	0.9969	0.9876	0.7096	0.9969
13	0.5427	0.6782	0.5049	0.8981	0.9135	0.7183	0.7329	0.4662	0.7183
14	0.6279	0.7711	0.5872	0.8009	0.8160	0.6279	0.6417	0.3939	0.6279
15	0.4004	0.5174	0.3687	0.9166	0.9012	0.8981	0.9135	0.6196	0.8981
16	0.3918	0.5074	0.3605	0.9043	0.8889	0.9104	0.9258	0.6306	0.9104
17	0.3833	0.4975	0.3525	0.8920	0.8767	0.9227	0.9382	0.6417	0.9227
18	0.3426	0.4498	0.3139	0.8311	0.8160	0.9845	1.0000	0.6981	0.9845
<i>i/j</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
19	0.8975	0.9560	0.8540	0.5686	0.5811	0.4292	0.4400	0.2549	0.4292
20	0.4400	0.5562	0.4081	0.9413	0.9267	0.8830	0.8975	0.6194	0.8830
21	0.6065	0.7405	0.5686	0.8540	0.8685	0.6857	0.6992	0.4510	0.6857
22	0.9121	0.9413	0.8685	0.5562	0.5686	0.4186	0.4292	0.2473	0.4186
23	0.5562	0.6857	0.5198	0.9121	0.9267	0.7405	0.7545	0.4963	0.7405
24	0.6065	0.7405	0.5686	0.8540	0.8685	0.6857	0.6992	0.4510	0.6857
25	0.9267	0.7826	0.9706	0.4292	0.4400	0.3123	0.3211	0.1745	0.3123
26	0.6992	0.5686	0.7405	0.2785	0.2867	0.1926	0.1989	0.0991	0.1926
27	0.8830	0.7405	0.9267	0.3978	0.4081	0.2867	0.2951	0.1578	0.2867
<i>i/j</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
28	.	0.8540	0.9560	0.4847	0.4963	0.3582	0.3678	0.2053	0.3582
29	0.8540	.	0.8110	0.6065	0.6194	0.4621	0.4733	0.2785	0.4621
30	0.9560	0.8110	.	0.4510	0.4621	0.3301	0.3393	0.1864	0.3301
31	0.4847	0.6065	0.4510	.	0.9853	0.8253	0.8396	0.5686	0.8253
32	0.4963	0.6194	0.4621	0.9853	.	0.8110	0.8253	0.5562	0.8110
33	0.3582	0.4621	0.3301	0.8253	0.8110	.	0.9853	0.7267	1.0000

34 0.3678 0.4733 0.3393 0.8396 0.8253 0.9853 . 0.7129 0.9853  
 35 0.2053 0.2785 0.1864 0.5686 0.5562 0.7267 0.7129 . 0.7267  
 36 0.3582 0.4621 0.3301 0.8253 0.8110 1.0000 0.9853 0.7267 .  
 i/j 28 29 30 31 32 33 34 35 36  
 37 0.3978 0.5080 0.3678 0.8830 0.8685 0.9413 0.9560 0.6722 0.9413  
 38 0.3393 0.4400 0.3123 0.7967 0.7826 0.9706 0.9560 0.7545 0.9706  
 39 0.6857 0.8253 0.6456 0.7685 0.7826 0.6065 0.6194 0.3877 0.6065  
 40 0.5318 0.6589 0.4963 0.9413 0.9560 0.7685 0.7826 0.5198 0.7685  
 41 0.3123 0.4081 0.2867 0.7545 0.7405 0.9267 0.9121 0.7967 0.9267  
 42 0.2705 0.3582 0.2473 0.6857 0.6722 0.8540 0.8396 0.8685 0.8540  
 43 0.5562 0.6857 0.5198 0.9121 0.9267 0.7405 0.7545 0.4963 0.7405  
 44 0.6325 0.7685 0.5938 0.8253 0.8396 0.6589 0.6722 0.4292 0.6589  
 45 0.4847 0.6065 0.4510 1.0000 0.9853 0.8253 0.8396 0.5686 0.8253  
 i/j 28 29 30 31 32 33 34 35 36  
 46 0.3978 0.5080 0.3678 0.8830 0.8685 0.9413 0.9560 0.6722 0.9413  
 47 0.4963 0.6194 0.4621 0.9853 1.0000 0.8110 0.8253 0.5562 0.8110  
 48 0.3877 0.4963 0.3582 0.8685 0.8540 0.9560 0.9706 0.6857 0.9560  
 i/j 37 38 39 40 41 42 43 44 45  
 1 0.7299 0.6445 0.9043 0.9104 0.6033 0.5376 0.9412 0.9660 0.8493  
 2 0.8614 0.7711 0.7711 0.9536 0.7270 0.6556 0.9227 0.8311 0.9845  
 3 0.9845 0.8920 0.6556 0.8311 0.8462 0.7711 0.8009 0.7125 0.8920  
 4 0.9104 0.8190 0.7241 0.9043 0.7741 0.7010 0.8736 0.7830 0.9660  
 5 0.9969 0.9043 0.6445 0.8190 0.8584 0.7830 0.7890 0.7010 0.8797  
 6 0.7534 0.6668 0.8797 0.9351 0.6251 0.5582 0.9660 0.9412 0.8736  
 7 0.9351 0.8432 0.7010 0.8797 0.7979 0.7241 0.8493 0.7593 0.9412  
 8 0.9351 0.8432 0.7010 0.8797 0.7979 0.7241 0.8493 0.7593 0.9412  
 9 0.9907 0.9166 0.6334 0.8069 0.8706 0.7950 0.7771 0.6895 0.8675  
 i/j 37 38 39 40 41 42 43 44 45  
 10 0.8797 0.9721 0.5376 0.7010 0.9814 0.9043 0.6725 0.5899 0.7593  
 11 0.8920 0.9845 0.5479 0.7125 0.9691 0.8920 0.6838 0.6006 0.7711  
 12 0.9412 0.9660 0.5899 0.7593 0.9197 0.8432 0.7299 0.6445 0.8190  
 13 0.7771 0.6895 0.8553 0.9598 0.6472 0.5793 0.9907 0.9166 0.8981  
 14 0.6838 0.6006 0.9536 0.8614 0.5608 0.4975 0.8920 0.9845 0.8009  
 15 0.9598 0.8675 0.6782 0.8553 0.8220 0.7475 0.8250 0.7358 0.9166  
 16 0.9721 0.8797 0.6668 0.8432 0.8341 0.7593 0.8130 0.7241 0.9043

17	0.9845	0.8920	0.6556	0.8311	0.8462	0.7711	0.8009	0.7125	0.8920
18	0.9536	0.9536	0.6006	0.7711	0.9074	0.8311	0.7416	0.6556	0.8311
<i>i/j</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
19	0.4733	0.4081	0.7826	0.6194	0.3777	0.3301	0.6456	0.7267	0.5686
20	0.9413	0.8540	0.7129	0.8830	0.8110	0.7405	0.8540	0.7685	0.9413
21	0.7405	0.6589	0.9121	0.9121	0.6194	0.5562	0.9413	0.9706	0.8540
22	0.4621	0.3978	0.7685	0.6065	0.3678	0.3211	0.6325	0.7129	0.5562
23	0.7967	0.7129	0.8540	0.9706	0.6722	0.6065	1.0000	0.9121	0.9121
24	0.7405	0.6589	0.9121	0.9121	0.6194	0.5562	0.9413	0.9706	0.8540
25	0.3487	0.2951	0.6194	0.4733	0.2705	0.2327	0.4963	0.5686	0.4292
26	0.2187	0.1804	0.4292	0.3123	0.1632	0.1374	0.3301	0.3877	0.2785
27	0.3211	0.2705	0.5811	0.4400	0.2473	0.2119	0.4621	0.5318	0.3978
<i>i/j</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
28	0.3978	0.3393	0.6857	0.5318	0.3123	0.2705	0.5562	0.6325	0.4847
29	0.5080	0.4400	0.8253	0.6589	0.4081	0.3582	0.6857	0.7685	0.6065
30	0.3678	0.3123	0.6456	0.4963	0.2867	0.2473	0.5198	0.5938	0.4510
31	0.8830	0.7967	0.7685	0.9413	0.7545	0.6857	0.9121	0.8253	1.0000
32	0.8685	0.7826	0.7826	0.9560	0.7405	0.6722	0.9267	0.8396	0.9853
33	0.9413	0.9706	0.6065	0.7685	0.9267	0.8540	0.7405	0.6589	0.8253
34	0.9560	0.9560	0.6194	0.7826	0.9121	0.8396	0.7545	0.6722	0.8396
35	0.6722	0.7545	0.3877	0.5198	0.7967	0.8685	0.4963	0.4292	0.5686
36	0.9413	0.9706	0.6065	0.7685	0.9267	0.8540	0.7405	0.6589	0.8253
<i>i/j</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
37	.	0.9121	0.6589	0.8253	0.8685	0.7967	0.7967	0.7129	0.8830
38	0.9121	.	0.5811	0.7405	0.9560	0.8830	0.7129	0.6325	0.7967
39	0.6589	0.5811	.	0.8253	0.5439	0.4847	0.8540	0.9413	0.7685
40	0.8253	0.7405	0.8253	.	0.6992	0.6325	0.9706	0.8830	0.9413
41	0.8685	0.9560	0.5439	0.6992	.	0.9267	0.6722	0.5938	0.7545
42	0.7967	0.8830	0.4847	0.6325	0.9267	.	0.6065	0.5318	0.6857
43	0.7967	0.7129	0.8540	0.9706	0.6722	0.6065	.	0.9121	0.9121
44	0.7129	0.6325	0.9413	0.8830	0.5938	0.5318	0.9121	.	0.8253
45	0.8830	0.7967	0.7685	0.9413	0.7545	0.6857	0.9121	0.8253	.
<i>i/j</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
46	1.0000	0.9121	0.6589	0.8253	0.8685	0.7967	0.7967	0.7129	0.8830
47	0.8685	0.7826	0.7826	0.9560	0.7405	0.6722	0.9267	0.8396	0.9853

48 0.9853 0.9267 0.6456 0.8110 0.8830 0.8110 0.7826 0.6992 0.8685

*ij* 46 47 48

1 0.7299 0.8645 0.7154

2 0.8614 1.0000 0.8462

3 0.9845 0.8767 0.9691

4 0.9104 0.9505 0.8951

5 0.9969 0.8645 0.9814

6 0.7534 0.8889 0.7387

7 0.9351 0.9258 0.9197

8 0.9351 0.9258 0.9197

9 0.9907 0.8523 0.9938

10 0.8797 0.7446 0.8951

11 0.8920 0.7563 0.9074

12 0.9412 0.8039 0.9567

13 0.7771 0.9135 0.7622

14 0.6838 0.8160 0.6697

15 0.9598 0.9012 0.9443

16 0.9721 0.8889 0.9567

17 0.9845 0.8767 0.9691

18 0.9536 0.8160 0.9691

19 0.4733 0.5811 0.4621

20 0.9413 0.9267 0.9267

21 0.7405 0.8685 0.7267

22 0.4621 0.5686 0.4510

23 0.7967 0.9267 0.7826

24 0.7405 0.8685 0.7267

25 0.3487 0.4400 0.3393

26 0.2187 0.2867 0.2119

27 0.3211 0.4081 0.3123

28 0.3978 0.4963 0.3877

29 0.5080 0.6194 0.4963

30 0.3678 0.4621 0.3582

31 0.8830 0.9853 0.8685

32 0.8685 1.0000 0.8540

33 0.9413 0.8110 0.9560

34	0.9560	0.8253	0.9706
35	0.6722	0.5562	0.6857
36	0.9413	0.8110	0.9560
37	1.0000	0.8685	0.9853
38	0.9121	0.7826	0.9267
39	0.6589	0.7826	0.6456
40	0.8253	0.9560	0.8110
41	0.8685	0.7405	0.8830
42	0.7967	0.6722	0.8110
43	0.7967	0.9267	0.7826
44	0.7129	0.8396	0.6992
45	0.8830	0.9853	0.8685
46	.	0.8685	0.9853
47	0.8685	.	0.8540
48	0.9853	0.8540	.

NOTE: To ensure overall protection level, only probabilities associated with pre-planned comparisons should be used.

ตารางผนวกที่ 7.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสลิน  
อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกร  
ที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

Source	df	SS	MS	F	Pr > F
Treatment	44	0.4895	0.0095	12.6	0.0004
A	2	0.1267	0.0126	13.4	0.0039
B	3	0.1674	0.0558	15.2	0.0014
C	4	0.3617	0.0072	20.4	0.0412
A*B	5	0.1162	0.0510	13.9	0.0081
A*C	7	0.0233	0.0023	16.4	0.0035
B*C	14	0.0446	0.0031	14.6	0.0042
A*B*C	23	0.0544	0.0029	28.0	0.0006
Error	162				
Corrected Total	209				

C.V. = 4.5624      R-square = 7.0900      Root MSE = 2.0015

- หมายเหตุ
- A หมายถึง ระดับของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสลิน 3 ระดับ คือ 0% + 0 AU/ml    1% + pediocin PA - 1 640 AU/ml และ 1% + pediocin PA - 1 1280 AU/ml
- B หมายถึง อุณหภูมิการเก็บรักษาเนื้อ 3 แบบ คือ 0-4<sup>o</sup>C    10-15<sup>o</sup>C และ 30-35<sup>o</sup>C
- C หมายถึง ระยะเวลาในการเก็บรักษา คือ ก่อนจุ่มสารละลาย, ชั่วโมงที่ 0, 3, 6 และ 12

ตารางผนวกที่ 7.8 แสดงค่า Least Squares Means และการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสติน อุณหภูมิ และระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

General Linear Models Procedure

Least Squares Means

Least Squares Means for effect TRT\*TEMP\*TIME

Pr > |T| H0: LSMEAN(i)=LSMEAN(j)

Dependent Variable: COUNTS

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	.	0.9834	0.9709	0.9751	0.9834	0.8634	0.8308	0.9046	0.8553
2	0.9834	.	0.9875	0.9584	1.0000	0.8471	0.8146	0.8881	0.8389
3	0.9709	0.9875	.	0.9460	0.9875	0.8349	0.8025	0.8758	0.8267
4	0.9751	0.9584	0.9460	.	0.9584	0.8881	0.8553	0.9294	0.8799
5	0.9834	1.0000	0.9875	0.9584	.	0.8471	0.8146	0.8881	0.8389
6	0.8634	0.8471	0.8349	0.8881	0.8471	.	0.9667	0.9584	0.9917
7	0.8308	0.8146	0.8025	0.8553	0.8146	0.9667	.	0.9253	0.9751
8	0.9046	0.8881	0.8758	0.9294	0.8881	0.9584	0.9253	.	0.9501
9	0.8553	0.8389	0.8267	0.8799	0.8389	0.9917	0.9751	0.9501	.
i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10	0.8594	0.8430	0.8308	0.8840	0.8430	0.9958	0.9709	0.9543	0.9958
11	0.8430	0.8267	0.8146	0.8675	0.8267	0.9792	0.9875	0.9377	0.9875
12	0.8430	0.8267	0.8146	0.8675	0.8267	0.9792	0.9875	0.9377	0.9875
13	0.6654	0.6503	0.6391	0.6882	0.6503	0.7944	0.8267	0.7545	0.8025
14	0.4918	0.4787	0.4691	0.5116	0.4787	0.6060	0.6354	0.5701	0.6133
15	0.7904	0.7744	0.7625	0.8146	0.7744	0.9253	0.9584	0.8840	0.9335
16	0.8267	0.8105	0.7984	0.8512	0.8105	0.9626	0.9958	0.9211	0.9709
17	0.7466	0.7625	0.7744	0.7231	0.7625	0.6206	0.5915	0.6578	0.6133
18	0.8634	0.8471	0.8349	0.8881	0.8471	1.0000	0.9667	0.9584	0.9917
i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
19	0.4019	0.4136	0.4226	0.3846	0.4136	0.3127	0.2932	0.3382	0.3077
20	0.8471	0.8308	0.8186	0.8716	0.8308	0.9834	0.9834	0.9418	0.9917
21	0.6730	0.6578	0.6466	0.6959	0.6578	0.8025	0.8349	0.7625	0.8105

22	0.6354	0.6206	0.6096	0.6578	0.6206	0.7625	0.7944	0.7231	0.7704
23	0.6170	0.6024	0.5915	0.6391	0.6024	0.7427	0.7744	0.7036	0.7506
24	0.6133	0.5987	0.5879	0.6354	0.5987	0.7387	0.7704	0.6998	0.7466
25	0.9253	0.9418	0.9543	0.9005	0.9418	0.7904	0.7585	0.8308	0.7824
26	0.6959	0.6806	0.6692	0.7192	0.6806	0.8267	0.8594	0.7864	0.8349
27	0.6959	0.6806	0.6692	0.7192	0.6806	0.8267	0.8594	0.7864	0.8349
<i>i/j</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9
28	0.6768	0.6616	0.6503	0.6998	0.6616	0.8065	0.8389	0.7664	0.8146
29	0.7427	0.7270	0.7153	0.7664	0.7270	0.8758	0.9087	0.8349	0.8840
30	0.6466	0.6317	0.6206	0.6692	0.6317	0.7744	0.8065	0.7348	0.7824
31	0.3077	0.2980	0.2908	0.3227	0.2980	0.3961	0.4196	0.3678	0.4019
32	0.3330	0.3227	0.3152	0.3488	0.3227	0.4256	0.4502	0.3961	0.4317
33	0.3382	0.3278	0.3202	0.3541	0.3278	0.4317	0.4564	0.4019	0.4378
34	0.3077	0.2980	0.2908	0.3227	0.2980	0.3961	0.4196	0.3678	0.4019
35	0.2197	0.2120	0.2064	0.2316	0.2120	0.2908	0.3102	0.2678	0.2956
36	0.4533	0.4409	0.4317	0.4723	0.4409	0.5631	0.5915	0.5285	0.5701
<i>i/j</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9
37	0.4378	0.4256	0.4166	0.4564	0.4256	0.5457	0.5737	0.5116	0.5526
38	0.4787	0.4659	0.4564	0.4983	0.4659	0.5915	0.6206	0.5561	0.5987
39	0.3990	0.3874	0.3789	0.4166	0.3874	0.5016	0.5285	0.4691	0.5083
40	0.4596	0.4471	0.4378	0.4787	0.4471	0.5701	0.5987	0.5353	0.5772
41	0.9100	0.9256	0.9373	0.8867	0.9256	0.7832	0.7532	0.8212	0.7757
42	0.9100	0.9256	0.9373	0.8867	0.9256	0.7832	0.7532	0.8212	0.7757
43	0.9149	0.9305	0.9422	0.8915	0.9305	0.7879	0.7578	0.8260	0.7804
44	0.8712	0.8867	0.8983	0.8480	0.8867	0.7457	0.7162	0.7832	0.7383
45	0.8954	0.9110	0.9227	0.8722	0.9110	0.7691	0.7392	0.8069	0.7616
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	0.8594	0.8430	0.8430	0.6654	0.4918	0.7904	0.8267	0.7466	0.8634
2	0.8430	0.8267	0.8267	0.6503	0.4787	0.7744	0.8105	0.7625	0.8471
3	0.8308	0.8146	0.8146	0.6391	0.4691	0.7625	0.7984	0.7744	0.8349
4	0.8840	0.8675	0.8675	0.6882	0.5116	0.8146	0.8512	0.7231	0.8881
5	0.8430	0.8267	0.8267	0.6503	0.4787	0.7744	0.8105	0.7625	0.8471
6	0.9958	0.9792	0.9792	0.7944	0.6060	0.9253	0.9626	0.6206	1.0000
7	0.9709	0.9875	0.9875	0.8267	0.6354	0.9584	0.9958	0.5915	0.9667
8	0.9543	0.9377	0.9377	0.7545	0.5701	0.8840	0.9211	0.6578	0.9584

9	0.9958	0.9875	0.9875	0.8025	0.6133	0.9335	0.9709	0.6133	0.9917
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
10	.	0.9834	0.9834	0.7984	0.6096	0.9294	0.9667	0.6170	0.9958
11	0.9834	.	1.0000	0.8146	0.6243	0.9460	0.9834	0.6024	0.9792
12	0.9834	1.0000	.	0.8146	0.6243	0.9460	0.9834	0.6024	0.9792
13	0.7984	0.8146	0.8146	.	0.7984	0.8675	0.8308	0.4502	0.7944
14	0.6096	0.6243	0.6243	0.7984	.	0.6730	0.6391	0.3127	0.6060
15	0.9294	0.9460	0.9460	0.8675	0.6730	.	0.9626	0.5561	0.9253
16	0.9667	0.9834	0.9834	0.8308	0.6391	0.9626	.	0.5879	0.9626
17	0.6170	0.6024	0.6024	0.4502	0.3127	0.5561	0.5879	.	0.6206
18	0.9958	0.9792	0.9792	0.7944	0.6060	0.9253	0.9626	0.6206	.
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
19	0.3102	0.3004	0.3004	0.2045	0.1280	0.2700	0.2908	0.6060	0.3127
20	0.9875	0.9958	0.9958	0.8105	0.6206	0.9418	0.9792	0.6060	0.9834
21	0.8065	0.8227	0.8227	0.9917	0.7904	0.8758	0.8389	0.4564	0.8025
22	0.7664	0.7824	0.7824	0.9667	0.8308	0.8349	0.7984	0.4256	0.7625
23	0.7466	0.7625	0.7625	0.9460	0.8512	0.8146	0.7784	0.4107	0.7427
24	0.7427	0.7585	0.7585	0.9418	0.8553	0.8105	0.7744	0.4077	0.7387
25	0.7864	0.7704	0.7704	0.5987	0.4347	0.7192	0.7545	0.8186	0.7904
26	0.8308	0.8471	0.8471	0.9667	0.7664	0.9005	0.8634	0.4755	0.8267
27	0.8308	0.8471	0.8471	0.9667	0.7664	0.9005	0.8634	0.4755	0.8267
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
28	0.8105	0.8267	0.8267	0.9875	0.7864	0.8799	0.8430	0.4596	0.8065
29	0.8799	0.8963	0.8963	0.9170	0.7192	0.9501	0.9128	0.5150	0.8758
30	0.7784	0.7944	0.7944	0.9792	0.8186	0.8471	0.8105	0.4347	0.7744
31	0.3990	0.4107	0.4107	0.5561	0.7387	0.4502	0.4226	0.1798	0.3961
32	0.4286	0.4409	0.4409	0.5915	0.7784	0.4820	0.4533	0.1972	0.4256
33	0.4347	0.4471	0.4471	0.5987	0.7864	0.4885	0.4596	0.2008	0.4317
34	0.3990	0.4107	0.4107	0.5561	0.7387	0.4502	0.4226	0.1798	0.3961
35	0.2932	0.3028	0.3028	0.4256	0.5879	0.3356	0.3127	0.1217	0.2908
36	0.5666	0.5808	0.5808	0.7506	0.9501	0.6280	0.5951	0.2838	0.5631
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
37	0.5491	0.5631	0.5631	0.7309	0.9294	0.6096	0.5772	0.2723	0.5457
38	0.5951	0.6096	0.6096	0.7824	0.9834	0.6578	0.6243	0.3028	0.5915

39	0.5050	0.5183	0.5183	0.6806	0.8758	0.5631	0.5319	0.2439	0.5016
40	0.5737	0.5879	0.5879	0.7585	0.9584	0.6354	0.6024	0.2884	0.5701
41	0.7794	0.7644	0.7644	0.6026	0.4466	0.7162	0.7495	0.8480	0.7832
42	0.7794	0.7644	0.7644	0.6026	0.4466	0.7162	0.7495	0.8480	0.7832
43	0.7841	0.7691	0.7691	0.6069	0.4503	0.7208	0.7541	0.8432	0.7879
44	0.7420	0.7272	0.7272	0.5688	0.4179	0.6798	0.7125	0.8867	0.7457
45	0.7653	0.7504	0.7504	0.5898	0.4357	0.7025	0.7355	0.8625	0.7691
i/j	19	20	21	22	23	24	25	26	27
1	0.4019	0.8471	0.6730	0.6354	0.6170	0.6133	0.9253	0.6959	0.6959
2	0.4136	0.8308	0.6578	0.6206	0.6024	0.5987	0.9418	0.6806	0.6806
3	0.4226	0.8186	0.6466	0.6096	0.5915	0.5879	0.9543	0.6692	0.6692
4	0.3846	0.8716	0.6959	0.6578	0.6391	0.6354	0.9005	0.7192	0.7192
5	0.4136	0.8308	0.6578	0.6206	0.6024	0.5987	0.9418	0.6806	0.6806
6	0.3127	0.9834	0.8025	0.7625	0.7427	0.7387	0.7904	0.8267	0.8267
7	0.2932	0.9834	0.8349	0.7944	0.7744	0.7704	0.7585	0.8594	0.8594
8	0.3382	0.9418	0.7625	0.7231	0.7036	0.6998	0.8308	0.7864	0.7864
9	0.3077	0.9917	0.8105	0.7704	0.7506	0.7466	0.7824	0.8349	0.8349
i/j	19	20	21	22	23	24	25	26	27
10	0.3102	0.9875	0.8065	0.7664	0.7466	0.7427	0.7864	0.8308	0.8308
11	0.3004	0.9958	0.8227	0.7824	0.7625	0.7585	0.7704	0.8471	0.8471
12	0.3004	0.9958	0.8227	0.7824	0.7625	0.7585	0.7704	0.8471	0.8471
13	0.2045	0.8105	0.9917	0.9667	0.9460	0.9418	0.5987	0.9667	0.9667
14	0.1280	0.6206	0.7904	0.8308	0.8512	0.8553	0.4347	0.7664	0.7664
15	0.2700	0.9418	0.8758	0.8349	0.8146	0.8105	0.7192	0.9005	0.9005
16	0.2908	0.9792	0.8389	0.7984	0.7784	0.7744	0.7545	0.8634	0.8634
17	0.6060	0.6060	0.4564	0.4256	0.4107	0.4077	0.8186	0.4755	0.4755
18	0.3127	0.9834	0.8025	0.7625	0.7427	0.7387	0.7904	0.8267	0.8267
i/j	19	20	21	22	23	24	25	26	27
19	.	0.3028	0.2082	0.1901	0.1815	0.1798	0.4564	0.2197	0.2197
20	0.3028	.	0.8186	0.7784	0.7585	0.7545	0.7744	0.8430	0.8430
21	0.2082	0.8186	.	0.9584	0.9377	0.9335	0.6060	0.9751	0.9751
22	0.1901	0.7784	0.9584	.	0.9792	0.9751	0.5701	0.9335	0.9335
23	0.1815	0.7585	0.9377	0.9792	.	0.9958	0.5526	0.9128	0.9128
24	0.1798	0.7545	0.9335	0.9751	0.9958	.	0.5491	0.9087	0.9087
25	0.4564	0.7744	0.6060	0.5701	0.5526	0.5491	.	0.6280	0.6280

26	0.2197	0.8430	0.9751	0.9335	0.9128	0.9087	0.6280	.	1.0000
27	0.2197	0.8430	0.9751	0.9335	0.9128	0.9087	0.6280	1.0000	.
<i>ij</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
28	0.2101	0.8227	0.9958	0.9543	0.9335	0.9294	0.6096	0.9792	0.9792
29	0.2439	0.8922	0.9253	0.8840	0.8634	0.8594	0.6730	0.9501	0.9501
30	0.1954	0.7904	0.9709	0.9875	0.9667	0.9626	0.5808	0.9460	0.9460
31	0.0641	0.4077	0.5491	0.5844	0.6024	0.6060	0.2655	0.5285	0.5285
32	0.0718	0.4378	0.5844	0.6206	0.6391	0.6428	0.2884	0.5631	0.5631
33	0.0735	0.4440	0.5915	0.6280	0.6466	0.6503	0.2932	0.5701	0.5701
34	0.0641	0.4077	0.5491	0.5844	0.6024	0.6060	0.2655	0.5285	0.5285
35	0.0397	0.3004	0.4196	0.4502	0.4659	0.4691	0.1867	0.4019	0.4019
36	0.1132	0.5772	0.7427	0.7824	0.8025	0.8065	0.3990	0.7192	0.7192
<i>lj</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
37	0.1075	0.5596	0.7231	0.7625	0.7824	0.7864	0.3846	0.6998	0.6998
38	0.1229	0.6060	0.7744	0.8146	0.8349	0.8389	0.4226	0.7506	0.7506
39	0.0936	0.5150	0.6730	0.7114	0.7309	0.7348	0.3488	0.6503	0.6503
40	0.1156	0.5844	0.7506	0.7904	0.8105	0.8146	0.4048	0.7270	0.7270
41	0.4980	0.7681	0.6095	0.5755	0.5589	0.5556	0.9804	0.6302	0.6302
42	0.4980	0.7681	0.6095	0.5755	0.5589	0.5556	0.9804	0.6302	0.6302
43	0.4941	0.7728	0.6138	0.5797	0.5630	0.5597	0.9853	0.6346	0.6346
44	0.5296	0.7309	0.5755	0.5425	0.5264	0.5232	0.9412	0.5958	0.5958
45	0.5097	0.7541	0.5966	0.5630	0.5466	0.5433	0.9657	0.6172	0.6172
<i>ij</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
1	0.6768	0.7427	0.6466	0.3077	0.3330	0.3382	0.3077	0.2197	0.4533
2	0.6616	0.7270	0.6317	0.2980	0.3227	0.3278	0.2980	0.2120	0.4409
3	0.6503	0.7153	0.6206	0.2908	0.3152	0.3202	0.2908	0.2064	0.4317
4	0.6998	0.7664	0.6692	0.3227	0.3488	0.3541	0.3227	0.2316	0.4723
5	0.6616	0.7270	0.6317	0.2980	0.3227	0.3278	0.2980	0.2120	0.4409
6	0.8065	0.8758	0.7744	0.3961	0.4256	0.4317	0.3961	0.2908	0.5631
7	0.8389	0.9087	0.8065	0.4196	0.4502	0.4564	0.4196	0.3102	0.5915
8	0.7664	0.8349	0.7348	0.3678	0.3961	0.4019	0.3678	0.2678	0.5285
9	0.8146	0.8840	0.7824	0.4019	0.4317	0.4378	0.4019	0.2956	0.5701
<i>ij</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
10	0.8105	0.8799	0.7784	0.3990	0.4286	0.4347	0.3990	0.2932	0.5666
11	0.8267	0.8963	0.7944	0.4107	0.4409	0.4471	0.4107	0.3028	0.5808

12	0.8267	0.8963	0.7944	0.4107	0.4409	0.4471	0.4107	0.3028	0.5808
13	0.9875	0.9170	0.9792	0.5561	0.5915	0.5987	0.5561	0.4256	0.7506
14	0.7864	0.7192	0.8186	0.7387	0.7784	0.7864	0.7387	0.5879	0.9501
15	0.8799	0.9501	0.8471	0.4502	0.4820	0.4885	0.4502	0.3356	0.6280
16	0.8430	0.9128	0.8105	0.4226	0.4533	0.4596	0.4226	0.3127	0.5951
17	0.4596	0.5150	0.4347	0.1798	0.1972	0.2008	0.1798	0.1217	0.2838
18	0.8065	0.8758	0.7744	0.3961	0.4256	0.4317	0.3961	0.2908	0.5631
<i>i/j</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
19	0.2101	0.2439	0.1954	0.0641	0.0718	0.0735	0.0641	0.0397	0.1132
20	0.8227	0.8922	0.7904	0.4077	0.4378	0.4440	0.4077	0.3004	0.5772
21	0.9958	0.9253	0.9709	0.5491	0.5844	0.5915	0.5491	0.4196	0.7427
22	0.9543	0.8840	0.9875	0.5844	0.6206	0.6280	0.5844	0.4502	0.7824
23	0.9335	0.8634	0.9667	0.6024	0.6391	0.6466	0.6024	0.4659	0.8025
24	0.9294	0.8594	0.9626	0.6060	0.6428	0.6503	0.6060	0.4691	0.8065
25	0.6096	0.6730	0.5808	0.2655	0.2884	0.2932	0.2655	0.1867	0.3990
26	0.9792	0.9501	0.9460	0.5285	0.5631	0.5701	0.5285	0.4019	0.7192
27	0.9792	0.9501	0.9460	0.5285	0.5631	0.5701	0.5285	0.4019	0.7192
<i>i/j</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
28	.	0.9294	0.9667	0.5457	0.5808	0.5879	0.5457	0.4166	0.7387
29	0.9294	.	0.8963	0.4885	0.5217	0.5285	0.4885	0.3678	0.6730
30	0.9667	0.8963	.	0.5737	0.6096	0.6170	0.5737	0.4409	0.7704
31	0.5457	0.4885	0.5737	.	0.9584	0.9501	1.0000	0.8349	0.7864
32	0.5808	0.5217	0.6096	0.9584	.	0.9917	0.9584	0.7944	0.8267
33	0.5879	0.5285	0.6170	0.9501	0.9917	.	0.9501	0.7864	0.8349
34	0.5457	0.4885	0.5737	1.0000	0.9584	0.9501	.	0.8349	0.7864
35	0.4166	0.3678	0.4409	0.8349	0.7944	0.7864	0.8349	.	0.6317
36	0.7387	0.6730	0.7704	0.7864	0.8267	0.8349	0.7864	0.6317	.
<i>i/j</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
37	0.7192	0.6541	0.7506	0.8065	0.8471	0.8553	0.8065	0.6503	0.9792
38	0.7704	0.7036	0.8025	0.7545	0.7944	0.8025	0.7545	0.6024	0.9667
39	0.6692	0.6060	0.6998	0.8594	0.9005	0.9087	0.8594	0.6998	0.9253
40	0.7466	0.6806	0.7784	0.7784	0.8186	0.8267	0.7784	0.6243	0.9917
41	0.6129	0.6727	0.5856	0.2827	0.3051	0.3098	0.2827	0.2042	0.4123
42	0.6129	0.6727	0.5856	0.2827	0.3051	0.3098	0.2827	0.2042	0.4123
43	0.6172	0.6772	0.5898	0.2854	0.3080	0.3127	0.2854	0.2063	0.4158

44	0.5789	0.6372	0.5523	0.2613	0.2827	0.2871	0.2613	0.1873	0.3849
45	0.6000	0.6593	0.5730	0.2745	0.2966	0.3011	0.2745	0.1977	0.4019
<i>ij</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
1	0.4378	0.4787	0.3990	0.4596	0.9100	0.9100	0.9149	0.8712	0.8954
2	0.4256	0.4659	0.3874	0.4471	0.9256	0.9256	0.9305	0.8867	0.9110
3	0.4166	0.4564	0.3789	0.4378	0.9373	0.9373	0.9422	0.8983	0.9227
4	0.4564	0.4983	0.4166	0.4787	0.8867	0.8867	0.8915	0.8480	0.8722
5	0.4256	0.4659	0.3874	0.4471	0.9256	0.9256	0.9305	0.8867	0.9110
6	0.5457	0.5915	0.5016	0.5701	0.7832	0.7832	0.7879	0.7457	0.7691
7	0.5737	0.6206	0.5285	0.5987	0.7532	0.7532	0.7578	0.7162	0.7392
8	0.5116	0.5561	0.4691	0.5353	0.8212	0.8212	0.8260	0.7832	0.8069
9	0.5526	0.5987	0.5083	0.5772	0.7757	0.7757	0.7804	0.7383	0.7616
<i>ij</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
10	0.5491	0.5951	0.5050	0.5737	0.7794	0.7794	0.7841	0.7420	0.7653
11	0.5631	0.6096	0.5183	0.5879	0.7644	0.7644	0.7691	0.7272	0.7504
12	0.5631	0.6096	0.5183	0.5879	0.7644	0.7644	0.7691	0.7272	0.7504
13	0.7309	0.7824	0.6806	0.7585	0.6026	0.6026	0.6069	0.5688	0.5898
14	0.9294	0.9834	0.8758	0.9584	0.4466	0.4466	0.4503	0.4179	0.4357
15	0.6096	0.6578	0.5631	0.6354	0.7162	0.7162	0.7208	0.6798	0.7025
16	0.5772	0.6243	0.5319	0.6024	0.7495	0.7495	0.7541	0.7125	0.7355
17	0.2723	0.3028	0.2439	0.2884	0.8480	0.8480	0.8432	0.8867	0.8625
18	0.5457	0.5915	0.5016	0.5701	0.7832	0.7832	0.7879	0.7457	0.7691
<i>ij</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
19	0.1075	0.1229	0.0936	0.1156	0.4980	0.4980	0.4941	0.5296	0.5097
20	0.5596	0.6060	0.5150	0.5844	0.7681	0.7681	0.7728	0.7309	0.7541
21	0.7231	0.7744	0.6730	0.7506	0.6095	0.6095	0.6138	0.5755	0.5966
22	0.7625	0.8146	0.7114	0.7904	0.5755	0.5755	0.5797	0.5425	0.5630
23	0.7824	0.8349	0.7309	0.8105	0.5589	0.5589	0.5630	0.5264	0.5466
24	0.7864	0.8389	0.7348	0.8146	0.5556	0.5556	0.5597	0.5232	0.5433
25	0.3846	0.4226	0.3488	0.4048	0.9804	0.9804	0.9853	0.9412	0.9657
26	0.6998	0.7506	0.6503	0.7270	0.6302	0.6302	0.6346	0.5958	0.6172
27	0.6998	0.7506	0.6503	0.7270	0.6302	0.6302	0.6346	0.5958	0.6172
<i>ij</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
28	0.7192	0.7704	0.6692	0.7466	0.6129	0.6129	0.6172	0.5789	0.6000
29	0.6541	0.7036	0.6060	0.6806	0.6727	0.6727	0.6772	0.6372	0.6593

30	0.7506	0.8025	0.6998	0.7784	0.5856	0.5856	0.5898	0.5523	0.5730
31	0.8065	0.7545	0.8594	0.7784	0.2827	0.2827	0.2854	0.2613	0.2745
32	0.8471	0.7944	0.9005	0.8186	0.3051	0.3051	0.3080	0.2827	0.2966
33	0.8553	0.8025	0.9087	0.8267	0.3098	0.3098	0.3127	0.2871	0.3011
34	0.8065	0.7545	0.8594	0.7784	0.2827	0.2827	0.2854	0.2613	0.2745
35	0.6503	0.6024	0.6998	0.6243	0.2042	0.2042	0.2063	0.1873	0.1977
36	0.9792	0.9667	0.9253	0.9917	0.4123	0.4123	0.4158	0.3849	0.4019
i/j	37	38	39	40	41	42	43	44	45
37	.	0.9460	0.9460	0.9709	0.3985	0.3985	0.4019	0.3717	0.3883
38	0.9460	.	0.8922	0.9751	0.4350	0.4350	0.4386	0.4067	0.4243
39	0.9460	0.8922	.	0.9170	0.3639	0.3639	0.3671	0.3386	0.3543
40	0.9709	0.9751	0.9170	.	0.4179	0.4179	0.4214	0.3903	0.4074
41	0.3985	0.4350	0.3639	0.4179	.	1.0000	0.9954	0.9628	0.9861
42	0.3985	0.4350	0.3639	0.4179	1.0000	.	0.9954	0.9628	0.9861
43	0.4019	0.4386	0.3671	0.4214	0.9954	0.9954	.	0.9582	0.9814
44	0.3717	0.4067	0.3386	0.3903	0.9628	0.9628	0.9582	.	0.9768
45	0.3883	0.4243	0.3543	0.4074	0.9861	0.9861	0.9814	0.9768	.

NOTE: To ensure overall protection level, only probabilities associated with pre-planned comparisons should be used.

ตารางผนวกที่ 7.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสติน  
อุณหภูมิตั้งแต่และระยะเวลาการเก็บต่อค่า pH เนื้อสุกรที่มาจากโรงฆ่าไม่  
มาตรฐาน

Source	df	SS	MS	F	Pr > F
Treatment	44	0.7958	0.1771	24.5	0.0088
A	2	0.2153	0.1076	12.7	0.0081
B	3	0.2256	0.1128	12.8	0.0006
C	4	0.0122	0.0030	18.4	0.0098
A*B	5	0.0786	0.0196	15.0	0.0073
A*C	7	0.0600	0.0075	19.4	0.0021
B*C	14	0.0561	0.0070	18.1	0.0037
A*B*C	23	0.1314	0.0082	21.0	0.0016
Error	180				
Corrected Total	224				

C.V. = 3.4891

R-square = 0.9885

Root MSE = 0.1985

หมายเหตุ

- A หมายถึง ระดับของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสติน 3 ระดับ คือ 0% + 0 AU/ml 1% + pediocin PA - 1 640 AU/ml และ 1% + pediocin PA - 1 1280 AU/ml
- B หมายถึง อุณหภูมิการเก็บรักษาเนื้อ 3 แบบ คือ 0-4<sup>o</sup>C 10-15<sup>o</sup>C และ 30-35<sup>o</sup>C
- C หมายถึง ระยะเวลาในการเก็บรักษา คือ ก่อนจุ่มสารละลาย, ชั่วโมงที่ 0, 3, 6 และ 12

ตารางผนวกที่ 7.10 แสดงค่า Least Squares Means และการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกคร่วมกับแบคทีเรียโอซิน อุณหภูมิ และระยะเวลาการเก็บต่อค่า pH ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

General Linear Models Procedure

Least Squares Means

Least Squares Means for effect TRT\*TEMP\*TIME

Pr > |T| H0: LSMEAN(i)=LSMEAN(j)

Dependent Variable: pH

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	.	0.9367	0.7871	0.9493	0.9367	0.5891	0.5461	0.7148	0.5356
2	0.9367	.	0.7267	0.9873	1.0000	0.6450	0.6001	0.7749	0.5891
3	0.7871	0.7267	.	0.7386	0.7267	0.4181	0.3826	0.5252	0.3740
4	0.9493	0.9873	0.7386	.	0.9873	0.6336	0.5891	0.7627	0.5782
5	0.9367	1.0000	0.7267	0.9873	.	0.6450	0.6001	0.7749	0.5891
6	0.5891	0.6450	0.4181	0.6336	0.6450	.	0.9493	0.8612	0.9367
7	0.5461	0.6001	0.3826	0.5891	0.6001	0.9493	.	0.8116	0.9873
8	0.7148	0.7749	0.5252	0.7627	0.7749	0.8612	0.8116	.	0.7993
9	0.5356	0.5891	0.3740	0.5782	0.5891	0.9367	0.9873	0.7993	.
i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10	0.5782	0.6336	0.4090	0.6224	0.6336	0.9873	0.9620	0.8488	0.9493
11	0.3251	0.3656	0.2103	0.3572	0.3656	0.6564	0.7030	0.5356	0.7148
12	0.2342	0.2668	0.1449	0.2600	0.2668	0.5149	0.5567	0.4090	0.5674
13	0.4459	0.4947	0.3023	0.4847	0.4947	0.8239	0.8737	0.6912	0.8863
14	0.4181	0.4651	0.2806	0.4554	0.4651	0.7871	0.8363	0.6564	0.8488
15	0.3251	0.3656	0.2103	0.3572	0.3656	0.6564	0.7030	0.5356	0.7148
16	0.8488	0.9114	0.6450	0.8988	0.9114	0.7267	0.6795	0.8612	0.6679
17	0.7749	0.8363	0.5782	0.8239	0.8363	0.7993	0.7506	0.9367	0.7386
18	0.9367	1.0000	0.7267	0.9873	1.0000	0.6450	0.6001	0.7749	0.5891
i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
19	0.9873	0.9240	0.7993	0.9367	0.9240	0.5782	0.5356	0.7030	0.5252
20	0.7993	0.8612	0.6001	0.8488	0.8612	0.7749	0.7267	0.9114	0.7148
21	0.4365	0.4847	0.2950	0.4748	0.4847	0.8116	0.8612	0.6795	0.8737

22	0.4554	0.5047	0.3098	0.4947	0.5047	0.8363	0.8863	0.7030	0.8988
23	0.5047	0.5567	0.3490	0.5461	0.5567	0.8988	0.9493	0.7627	0.9620
24	0.4272	0.4748	0.2877	0.4651	0.4748	0.7993	0.8488	0.6679	0.8612
25	0.3913	0.4365	0.2600	0.4272	0.4365	0.7506	0.7993	0.6224	0.8116
26	0.2736	0.3098	0.1728	0.3023	0.3098	0.5782	0.6224	0.4651	0.6336
27	0.6112	0.5567	0.8116	0.5674	0.5567	0.2950	0.2668	0.3826	0.2600
<i>i/j</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9
28	0.2950	0.3330	0.1882	0.3251	0.3330	0.6112	0.6564	0.4947	0.6679
29	0.3330	0.3740	0.2161	0.3656	0.3740	0.6679	0.7148	0.5461	0.7267
30	0.6112	0.5567	0.8116	0.5674	0.5567	0.2950	0.2668	0.3826	0.2600
31	0.4748	0.5252	0.3251	0.5149	0.5252	0.8612	0.9114	0.7267	0.9240
32	0.4847	0.5356	0.3330	0.5252	0.5356	0.8737	0.9240	0.7386	0.9367
33	0.4181	0.4651	0.2806	0.4554	0.4651	0.7871	0.8363	0.6564	0.8488
34	0.5461	0.6001	0.3826	0.5891	0.6001	0.9493	1.0000	0.8116	0.9873
35	0.4365	0.4847	0.2950	0.4748	0.4847	0.8116	0.8612	0.6795	0.8737
36	0.2534	0.2877	0.1584	0.2806	0.2877	0.5461	0.5891	0.4365	0.6001
<i>i/j</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9
37	0.3098	0.3490	0.1990	0.3409	0.3490	0.6336	0.6795	0.5149	0.6912
38	0.3490	0.3913	0.2281	0.3826	0.3913	0.6912	0.7386	0.5674	0.7506
39	0.2806	0.3174	0.1778	0.3098	0.3174	0.5891	0.6336	0.4748	0.6450
40	0.2877	0.3251	0.1830	0.3174	0.3251	0.6001	0.6450	0.4847	0.6564
41	0.2103	0.2405	0.1283	0.2342	0.2405	0.4748	0.5149	0.3740	0.5252
42	0.2103	0.2405	0.1283	0.2342	0.2405	0.4748	0.5149	0.3740	0.5252
43	0.2103	0.2405	0.1283	0.2342	0.2405	0.4748	0.5149	0.3740	0.5252
44	0.2806	0.3174	0.1778	0.3098	0.3174	0.5891	0.6336	0.4748	0.6450
45	0.2469	0.2806	0.1538	0.2736	0.2806	0.5356	0.5782	0.4272	0.5891
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	0.5782	0.3251	0.2342	0.4459	0.4181	0.3251	0.8488	0.7749	0.9367
2	0.6336	0.3656	0.2668	0.4947	0.4651	0.3656	0.9114	0.8363	1.0000
3	0.4090	0.2103	0.1449	0.3023	0.2806	0.2103	0.6450	0.5782	0.7267
4	0.6224	0.3572	0.2600	0.4847	0.4554	0.3572	0.8988	0.8239	0.9873
5	0.6336	0.3656	0.2668	0.4947	0.4651	0.3656	0.9114	0.8363	1.0000
6	0.9873	0.6564	0.5149	0.8239	0.7871	0.6564	0.7267	0.7993	0.6450
7	0.9620	0.7030	0.5567	0.8737	0.8363	0.7030	0.6795	0.7506	0.6001
8	0.8488	0.5356	0.4090	0.6912	0.6564	0.5356	0.8612	0.9367	0.7749

9	0.9493	0.7148	0.5674	0.8863	0.8488	0.7148	0.6679	0.7386	0.5891
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
10	.	0.6679	0.5252	0.8363	0.7993	0.6679	0.7148	0.7871	0.6336
11	0.6679	.	0.8363	0.8239	0.8612	1.0000	0.4272	0.4847	0.3656
12	0.5252	0.8363	.	0.6679	0.7030	0.8363	0.3174	0.3656	0.2668
13	0.8363	0.8239	0.6679	.	0.9620	0.8239	0.5674	0.6336	0.4947
14	0.7993	0.8612	0.7030	0.9620	.	0.8612	0.5356	0.6001	0.4651
15	0.6679	1.0000	0.8363	0.8239	0.8612	.	0.4272	0.4847	0.3656
16	0.7148	0.4272	0.3174	0.5674	0.5356	0.4272	.	0.9240	0.9114
17	0.7871	0.4847	0.3656	0.6336	0.6001	0.4847	0.9240	.	0.8363
18	0.6336	0.3656	0.2668	0.4947	0.4651	0.3656	0.9114	0.8363	.
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
19	0.5674	0.3174	0.2281	0.4365	0.4090	0.3174	0.8363	0.7627	0.9240
20	0.7627	0.4651	0.3490	0.6112	0.5782	0.4651	0.9493	0.9746	0.8612
21	0.8239	0.8363	0.6795	0.9873	0.9746	0.8363	0.5567	0.6224	0.4847
22	0.8488	0.8116	0.6564	0.9873	0.9493	0.8116	0.5782	0.6450	0.5047
23	0.9114	0.7506	0.6001	0.9240	0.8863	0.7506	0.6336	0.7030	0.5567
24	0.8116	0.8488	0.6912	0.9746	0.9873	0.8488	0.5461	0.6112	0.4748
25	0.7627	0.8988	0.7386	0.9240	0.9620	0.8988	0.5047	0.5674	0.4365
26	0.5891	0.9114	0.9240	0.7386	0.7749	0.9114	0.3656	0.4181	0.3098
27	0.2877	0.1364	0.0903	0.2046	0.1882	0.1364	0.4847	0.4272	0.5567
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
28	0.6224	0.9493	0.8863	0.7749	0.8116	0.9493	0.3913	0.4459	0.3330
29	0.6795	0.9873	0.8239	0.8363	0.8737	0.9873	0.4365	0.4947	0.3740
30	0.2877	0.1364	0.0903	0.2046	0.1882	0.1364	0.4847	0.4272	0.5567
31	0.8737	0.7871	0.6336	0.9620	0.9240	0.7871	0.6001	0.6679	0.5252
32	0.8863	0.7749	0.6224	0.9493	0.9114	0.7749	0.6112	0.6795	0.5356
33	0.7993	0.8612	0.7030	0.9620	1.0000	0.8612	0.5356	0.6001	0.4651
34	0.9620	0.7030	0.5567	0.8737	0.8363	0.7030	0.6795	0.7506	0.6001
35	0.8239	0.8363	0.6795	0.9873	0.9746	0.8363	0.5567	0.6224	0.4847
36	0.5567	0.8737	0.9620	0.7030	0.7386	0.8737	0.3409	0.3913	0.2877
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
37	0.6450	0.9746	0.8612	0.7993	0.8363	0.9746	0.4090	0.4651	0.3490
38	0.7030	0.9620	0.7993	0.8612	0.8988	0.9620	0.4554	0.5149	0.3913

39	0.6001	0.9240	0.9114	0.7506	0.7871	0.9240	0.3740	0.4272	0.3174
40	0.6112	0.9367	0.8988	0.7627	0.7993	0.9367	0.3826	0.4365	0.3251
41	0.4847	0.7871	0.9493	0.6224	0.6564	0.7871	0.2877	0.3330	0.2405
42	0.4847	0.7871	0.9493	0.6224	0.6564	0.7871	0.2877	0.3330	0.2405
43	0.4847	0.7871	0.9493	0.6224	0.6564	0.7871	0.2877	0.3330	0.2405
44	0.6001	0.9240	0.9114	0.7506	0.7871	0.9240	0.3740	0.4272	0.3174
45	0.5461	0.8612	0.9746	0.6912	0.7267	0.8612	0.3330	0.3826	0.2806
<i>ij</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
1	0.9873	0.7993	0.4365	0.4554	0.5047	0.4272	0.3913	0.2736	0.6112
2	0.9240	0.8612	0.4847	0.5047	0.5567	0.4748	0.4365	0.3098	0.5567
3	0.7993	0.6001	0.2950	0.3098	0.3490	0.2877	0.2600	0.1728	0.8116
4	0.9367	0.8488	0.4748	0.4947	0.5461	0.4651	0.4272	0.3023	0.5674
5	0.9240	0.8612	0.4847	0.5047	0.5567	0.4748	0.4365	0.3098	0.5567
6	0.5782	0.7749	0.8116	0.8363	0.8988	0.7993	0.7506	0.5782	0.2950
7	0.5356	0.7267	0.8612	0.8863	0.9493	0.8488	0.7993	0.6224	0.2668
8	0.7030	0.9114	0.6795	0.7030	0.7627	0.6679	0.6224	0.4651	0.3826
9	0.5252	0.7148	0.8737	0.8988	0.9620	0.8612	0.8116	0.6336	0.2600
<i>ij</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
10	0.5674	0.7627	0.8239	0.8488	0.9114	0.8116	0.7627	0.5891	0.2877
11	0.3174	0.4651	0.8363	0.8116	0.7506	0.8488	0.8988	0.9114	0.1364
12	0.2281	0.3490	0.6795	0.6564	0.6001	0.6912	0.7386	0.9240	0.0903
13	0.4365	0.6112	0.9873	0.9873	0.9240	0.9746	0.9240	0.7386	0.2046
14	0.4090	0.5782	0.9746	0.9493	0.8863	0.9873	0.9620	0.7749	0.1882
15	0.3174	0.4651	0.8363	0.8116	0.7506	0.8488	0.8988	0.9114	0.1364
16	0.8363	0.9493	0.5567	0.5782	0.6336	0.5461	0.5047	0.3656	0.4847
17	0.7627	0.9746	0.6224	0.6450	0.7030	0.6112	0.5674	0.4181	0.4272
18	0.9240	0.8612	0.4847	0.5047	0.5567	0.4748	0.4365	0.3098	0.5567
<i>ij</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
19	.	0.7871	0.4272	0.4459	0.4947	0.4181	0.3826	0.2668	0.6224
20	0.7871	.	0.6001	0.6224	0.6795	0.5891	0.5461	0.4001	0.4459
21	0.4272	0.6001	.	0.9746	0.9114	0.9873	0.9367	0.7506	0.1990
22	0.4459	0.6224	0.9746	.	0.9367	0.9620	0.9114	0.7267	0.2103
23	0.4947	0.6795	0.9114	0.9367	.	0.8988	0.8488	0.6679	0.2405
24	0.4181	0.5891	0.9873	0.9620	0.8988	.	0.9493	0.7627	0.1936
25	0.3826	0.5461	0.9367	0.9114	0.8488	0.9493	.	0.8116	0.1728

26 0.2668 0.4001 0.7506 0.7267 0.6679 0.7627 0.8116 . 0.1097

27 0.6224 0.4459 0.1990 0.2103 0.2405 0.1936 0.1728 0.1097 .

*ij* 19 20 21 22 23 24 25 26 27

28 0.2877 0.4272 0.7871 0.7627 0.7030 0.7993 0.8488 0.9620 0.1206

29 0.3251 0.4748 0.8488 0.8239 0.7627 0.8612 0.9114 0.8988 0.1406

30 0.6224 0.4459 0.1990 0.2103 0.2405 0.1936 0.1728 0.1097 1.0000

31 0.4651 0.6450 0.9493 0.9746 0.9620 0.9367 0.8863 0.7030 0.2220

32 0.4748 0.6564 0.9367 0.9620 0.9746 0.9240 0.8737 0.6912 0.2281

33 0.4090 0.5782 0.9746 0.9493 0.8863 0.9873 0.9620 0.7749 0.1882

34 0.5356 0.7267 0.8612 0.8863 0.9493 0.8488 0.7993 0.6224 0.2668

35 0.4272 0.6001 1.0000 0.9746 0.9114 0.9873 0.9367 0.7506 0.1990

36 0.2469 0.3740 0.7148 0.6912 0.6336 0.7267 0.7749 0.9620 0.0996

*ij* 19 20 21 22 23 24 25 26 27

37 0.3023 0.4459 0.8116 0.7871 0.7267 0.8239 0.8737 0.9367 0.1283

38 0.3409 0.4947 0.8737 0.8488 0.7871 0.8863 0.9367 0.8737 0.1493

39 0.2736 0.4090 0.7627 0.7386 0.6795 0.7749 0.8239 0.9873 0.1133

40 0.2806 0.4181 0.7749 0.7506 0.6912 0.7871 0.8363 0.9746 0.1169

41 0.2046 0.3174 0.6336 0.6112 0.5567 0.6450 0.6912 0.8737 0.0790

42 0.2046 0.3174 0.6336 0.6112 0.5567 0.6450 0.6912 0.8737 0.0790

43 0.2046 0.3174 0.6336 0.6112 0.5567 0.6450 0.6912 0.8737 0.0790

44 0.2736 0.4090 0.7627 0.7386 0.6795 0.7749 0.8239 0.9873 0.1133

45 0.2405 0.3656 0.7030 0.6795 0.6224 0.7148 0.7627 0.9493 0.0965

*ij* 28 29 30 31 32 33 34 35 36

1 0.2950 0.3330 0.6112 0.4748 0.4847 0.4181 0.5461 0.4365 0.2534

2 0.3330 0.3740 0.5567 0.5252 0.5356 0.4651 0.6001 0.4847 0.2877

3 0.1882 0.2161 0.8116 0.3251 0.3330 0.2806 0.3826 0.2950 0.1584

4 0.3251 0.3656 0.5674 0.5149 0.5252 0.4554 0.5891 0.4748 0.2806

5 0.3330 0.3740 0.5567 0.5252 0.5356 0.4651 0.6001 0.4847 0.2877

6 0.6112 0.6679 0.2950 0.8612 0.8737 0.7871 0.9493 0.8116 0.5461

7 0.6564 0.7148 0.2668 0.9114 0.9240 0.8363 1.0000 0.8612 0.5891

8 0.4947 0.5461 0.3826 0.7267 0.7386 0.6564 0.8116 0.6795 0.4365

9 0.6679 0.7267 0.2600 0.9240 0.9367 0.8488 0.9873 0.8737 0.6001

*ij* 28 29 30 31 32 33 34 35 36

10 0.6224 0.6795 0.2877 0.8737 0.8863 0.7993 0.9620 0.8239 0.5567

11 0.9493 0.9873 0.1364 0.7871 0.7749 0.8612 0.7030 0.8363 0.8737

12	0.8863	0.8239	0.0903	0.6336	0.6224	0.7030	0.5567	0.6795	0.9620
13	0.7749	0.8363	0.2046	0.9620	0.9493	0.9620	0.8737	0.9873	0.7030
14	0.8116	0.8737	0.1882	0.9240	0.9114	1.0000	0.8363	0.9746	0.7386
15	0.9493	0.9873	0.1364	0.7871	0.7749	0.8612	0.7030	0.8363	0.8737
16	0.3913	0.4365	0.4847	0.6001	0.6112	0.5356	0.6795	0.5567	0.3409
17	0.4459	0.4947	0.4272	0.6679	0.6795	0.6001	0.7506	0.6224	0.3913
18	0.3330	0.3740	0.5567	0.5252	0.5356	0.4651	0.6001	0.4847	0.2877
<i>i/j</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
19	0.2877	0.3251	0.6224	0.4651	0.4748	0.4090	0.5356	0.4272	0.2469
20	0.4272	0.4748	0.4459	0.6450	0.6564	0.5782	0.7267	0.6001	0.3740
21	0.7871	0.8488	0.1990	0.9493	0.9367	0.9746	0.8612	1.0000	0.7148
22	0.7627	0.8239	0.2103	0.9746	0.9620	0.9493	0.8863	0.9746	0.6912
23	0.7030	0.7627	0.2405	0.9620	0.9746	0.8863	0.9493	0.9114	0.6336
24	0.7993	0.8612	0.1936	0.9367	0.9240	0.9873	0.8488	0.9873	0.7267
25	0.8488	0.9114	0.1728	0.8863	0.8737	0.9620	0.7993	0.9367	0.7749
26	0.9620	0.8988	0.1097	0.7030	0.6912	0.7749	0.6224	0.7506	0.9620
27	0.1206	0.1406	1.0000	0.2220	0.2281	0.1882	0.2668	0.1990	0.0996
<i>i/j</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
28	.	0.9367	0.1206	0.7386	0.7267	0.8116	0.6564	0.7871	0.9240
29	0.9367	.	0.1406	0.7993	0.7871	0.8737	0.7148	0.8488	0.8612
30	0.1206	0.1406	.	0.2220	0.2281	0.1882	0.2668	0.1990	0.0996
31	0.7386	0.7993	0.2220	.	0.9873	0.9240	0.9114	0.9493	0.6679
32	0.7267	0.7871	0.2281	0.9873	.	0.9114	0.9240	0.9367	0.6564
33	0.8116	0.8737	0.1882	0.9240	0.9114	.	0.8363	0.9746	0.7386
34	0.6564	0.7148	0.2668	0.9114	0.9240	0.8363	.	0.8612	0.5891
35	0.7871	0.8488	0.1990	0.9493	0.9367	0.9746	0.8612	.	0.7148
36	0.9240	0.8612	0.0996	0.6679	0.6564	0.7386	0.5891	0.7148	.
<i>i/j</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
37	0.9746	0.9620	0.1283	0.7627	0.7506	0.8363	0.6795	0.8116	0.8988
38	0.9114	0.9746	0.1493	0.8239	0.8116	0.8988	0.7386	0.8737	0.8363
39	0.9746	0.9114	0.1133	0.7148	0.7030	0.7871	0.6336	0.7627	0.9493
40	0.9873	0.9240	0.1169	0.7267	0.7148	0.7993	0.6450	0.7749	0.9367
41	0.8363	0.7749	0.0790	0.5891	0.5782	0.6564	0.5149	0.6336	0.9114
42	0.8363	0.7749	0.0790	0.5891	0.5782	0.6564	0.5149	0.6336	0.9114
43	0.8363	0.7749	0.0790	0.5891	0.5782	0.6564	0.5149	0.6336	0.9114

44 0.9746 0.9114 0.1133 0.7148 0.7030 0.7871 0.6336 0.7627 0.9493  
45 0.9114 0.8488 0.0965 0.6564 0.6450 0.7267 0.5782 0.7030 0.9873  
*i/j* 37 38 39 40 41 42 43 44 45  
1 0.3098 0.3490 0.2806 0.2877 0.2103 0.2103 0.2103 0.2806 0.2469  
2 0.3490 0.3913 0.3174 0.3251 0.2405 0.2405 0.2405 0.3174 0.2806  
3 0.1990 0.2281 0.1778 0.1830 0.1283 0.1283 0.1283 0.1778 0.1538  
4 0.3409 0.3826 0.3098 0.3174 0.2342 0.2342 0.2342 0.3098 0.2736  
5 0.3490 0.3913 0.3174 0.3251 0.2405 0.2405 0.2405 0.3174 0.2806  
6 0.6336 0.6912 0.5891 0.6001 0.4748 0.4748 0.4748 0.5891 0.5356  
7 0.6795 0.7386 0.6336 0.6450 0.5149 0.5149 0.5149 0.6336 0.5782  
8 0.5149 0.5674 0.4748 0.4847 0.3740 0.3740 0.3740 0.4748 0.4272  
9 0.6912 0.7506 0.6450 0.6564 0.5252 0.5252 0.5252 0.6450 0.5891  
*i/j* 37 38 39 40 41 42 43 44 45  
10 0.6450 0.7030 0.6001 0.6112 0.4847 0.4847 0.4847 0.6001 0.5461  
11 0.9746 0.9620 0.9240 0.9367 0.7871 0.7871 0.7871 0.9240 0.8612  
12 0.8612 0.7993 0.9114 0.8988 0.9493 0.9493 0.9493 0.9114 0.9746  
13 0.7993 0.8612 0.7506 0.7627 0.6224 0.6224 0.6224 0.7506 0.6912  
14 0.8363 0.8988 0.7871 0.7993 0.6564 0.6564 0.6564 0.7871 0.7267  
15 0.9746 0.9620 0.9240 0.9367 0.7871 0.7871 0.7871 0.9240 0.8612  
16 0.4090 0.4554 0.3740 0.3826 0.2877 0.2877 0.2877 0.3740 0.3330  
17 0.4651 0.5149 0.4272 0.4365 0.3330 0.3330 0.3330 0.4272 0.3826  
18 0.3490 0.3913 0.3174 0.3251 0.2405 0.2405 0.2405 0.3174 0.2806  
*i/j* 37 38 39 40 41 42 43 44 45  
19 0.3023 0.3409 0.2736 0.2806 0.2046 0.2046 0.2046 0.2736 0.2405  
20 0.4459 0.4947 0.4090 0.4181 0.3174 0.3174 0.3174 0.4090 0.3656  
21 0.8116 0.8737 0.7627 0.7749 0.6336 0.6336 0.6336 0.7627 0.7030  
22 0.7871 0.8488 0.7386 0.7506 0.6112 0.6112 0.6112 0.7386 0.6795  
23 0.7267 0.7871 0.6795 0.6912 0.5567 0.5567 0.5567 0.6795 0.6224  
24 0.8239 0.8863 0.7749 0.7871 0.6450 0.6450 0.6450 0.7749 0.7148  
25 0.8737 0.9367 0.8239 0.8363 0.6912 0.6912 0.6912 0.8239 0.7627  
26 0.9367 0.8737 0.9873 0.9746 0.8737 0.8737 0.8737 0.9873 0.9493  
27 0.1283 0.1493 0.1133 0.1169 0.0790 0.0790 0.0790 0.1133 0.0965  
*i/j* 37 38 39 40 41 42 43 44 45  
28 0.9746 0.9114 0.9746 0.9873 0.8363 0.8363 0.8363 0.9746 0.9114  
29 0.9620 0.9746 0.9114 0.9240 0.7749 0.7749 0.7749 0.9114 0.8488

30	0.1283	0.1493	0.1133	0.1169	0.0790	0.0790	0.0790	0.1133	0.0965
31	0.7627	0.8239	0.7148	0.7267	0.5891	0.5891	0.5891	0.7148	0.6564
32	0.7506	0.8116	0.7030	0.7148	0.5782	0.5782	0.5782	0.7030	0.6450
33	0.8363	0.8988	0.7871	0.7993	0.6564	0.6564	0.6564	0.7871	0.7267
34	0.6795	0.7386	0.6336	0.6450	0.5149	0.5149	0.5149	0.6336	0.5782
35	0.8116	0.8737	0.7627	0.7749	0.6336	0.6336	0.6336	0.7627	0.7030
36	0.8988	0.8363	0.9493	0.9367	0.9114	0.9114	0.9114	0.9493	0.9873
i/j	37	38	39	40	41	42	43	44	45
37	.	0.9367	0.9493	0.9620	0.8116	0.8116	0.8116	0.9493	0.8863
38	0.9367	.	0.8863	0.8988	0.7506	0.7506	0.7506	0.8863	0.8239
39	0.9493	0.8863	.	0.9873	0.8612	0.8612	0.8612	1.0000	0.9367
40	0.9620	0.8988	0.9873	.	0.8488	0.8488	0.8488	0.9873	0.9240
41	0.8116	0.7506	0.8612	0.8488	.	1.0000	1.0000	0.8612	0.9240
42	0.8116	0.7506	0.8612	0.8488	1.0000	.	1.0000	0.8612	0.9240
43	0.8116	0.7506	0.8612	0.8488	1.0000	1.0000	.	0.8612	0.9240
44	0.9493	0.8863	1.0000	0.9873	0.8612	0.8612	0.8612	.	0.9367
45	0.8863	0.8239	0.9367	0.9240	0.9240	0.9240	0.9240	0.9367	.

NOTE: To ensure overall protection level, only probabilities associated with pre-planned comparisons should be used.

ตารางผนวกที่ 7.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสติน  
อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่อค่าสี (L\*) เนื้อสุกรที่มาจากโรงฆ่าไม่  
มาตรฐาน

Source	df	SS	MS	F	Pr > F
Treatment	44	0.5494	1.240	13.4	0.0451
A	2	0.1250	0.6201	16.4	0.0481
B	3	0.1886	0.9443	12.6	0.0512
C	4	0.0237	0.0059	12.4	0.0096
A*B	5	0.3056	0.7640	12.0	0.0452
A*C	7	0.2289	0.0286	18.1	0.0070
B*C	14	0.3179	0.0397	11.0	0.0092
A*B*C	23	0.4387	0.0274	27.6	0.0061
Error	175				
Corrected Total	229				

C.V. = 11.3562      R-square = 0.7834      Root MSE = 0.6058

หมายเหตุ      A หมายถึง ระดับของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสติน 3 ระดับ คือ  
0% + 0 AU/ml    1% + pediocin PA – 1 640 AU/ml และ 1% + pediocin  
PA - 1 1280 AU/ml

B หมายถึง อุณหภูมิการเก็บรักษาเนื้อ 3 แบบ คือ 0-4<sup>o</sup>ซ    10-15<sup>o</sup>ซ และ  
30-35<sup>o</sup>ซ

C หมายถึง ระยะเวลาในการเก็บรักษา คือ ก่อนจุ่มสารละลาย, ชั่วโมงที่ 0, 3, 6  
และ 12

ตารางผนวกที่ 7.12 แสดงค่า Least Squares Means และการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสลิน อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่อค่าสี ( $L^*$ ) เนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

General Linear Models Procedure

Least Squares Means

Least Squares Means for effect TRT\*TEMP\*TIME

Pr > |T| H0: LSMEAN(i)=LSMEAN(j)

Dependent Variable: COLOR

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	.	0.9834	0.9709	0.9751	0.9834	0.8634	0.8308	0.9046	0.8553
2	0.9834	.	0.9875	0.9584	1.0000	0.8471	0.8146	0.8881	0.8389
3	0.9709	0.9875	.	0.9460	0.9875	0.8349	0.8025	0.8758	0.8267
4	0.9751	0.9584	0.9460	.	0.9584	0.8881	0.8553	0.9294	0.8799
5	0.9834	1.0000	0.9875	0.9584	.	0.8471	0.8146	0.8881	0.8389
6	0.8634	0.8471	0.8349	0.8881	0.8471	.	0.9667	0.9584	0.9917
7	0.8308	0.8146	0.8025	0.8553	0.8146	0.9667	.	0.9253	0.9751
8	0.9046	0.8881	0.8758	0.9294	0.8881	0.9584	0.9253	.	0.9501
9	0.8553	0.8389	0.8267	0.8799	0.8389	0.9917	0.9751	0.9501	.
i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10	0.8594	0.8430	0.8308	0.8840	0.8430	0.9958	0.9709	0.9543	0.9958
11	0.8430	0.8267	0.8146	0.8675	0.8267	0.9792	0.9875	0.9377	0.9875
12	0.8430	0.8267	0.8146	0.8675	0.8267	0.9792	0.9875	0.9377	0.9875
13	0.6654	0.6503	0.6391	0.6882	0.6503	0.7944	0.8267	0.7545	0.8025
14	0.4918	0.4787	0.4691	0.5116	0.4787	0.6060	0.6354	0.5701	0.6133
15	0.7904	0.7744	0.7625	0.8146	0.7744	0.9253	0.9584	0.8840	0.9335
16	0.8267	0.8105	0.7984	0.8512	0.8105	0.9626	0.9958	0.9211	0.9709
17	0.7466	0.7625	0.7744	0.7231	0.7625	0.6206	0.5915	0.6578	0.6133
18	0.8634	0.8471	0.8349	0.8881	0.8471	1.0000	0.9667	0.9584	0.9917
i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
19	0.4019	0.4136	0.4226	0.3846	0.4136	0.3127	0.2932	0.3382	0.3077
20	0.8471	0.8308	0.8186	0.8716	0.8308	0.9834	0.9834	0.9418	0.9917
21	0.6730	0.6578	0.6466	0.6959	0.6578	0.8025	0.8349	0.7625	0.8105
22	0.6354	0.6206	0.6096	0.6578	0.6206	0.7625	0.7944	0.7231	0.7704

23	0.6170	0.6024	0.5915	0.6391	0.6024	0.7427	0.7744	0.7036	0.7506
24	0.6133	0.5987	0.5879	0.6354	0.5987	0.7387	0.7704	0.6998	0.7466
25	0.9253	0.9418	0.9543	0.9005	0.9418	0.7904	0.7585	0.8308	0.7824
26	0.6959	0.6806	0.6692	0.7192	0.6806	0.8267	0.8594	0.7864	0.8349
27	0.6959	0.6806	0.6692	0.7192	0.6806	0.8267	0.8594	0.7864	0.8349
<i>i/j</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9
28	0.6768	0.6616	0.6503	0.6998	0.6616	0.8065	0.8389	0.7664	0.8146
29	0.7427	0.7270	0.7153	0.7664	0.7270	0.8758	0.9087	0.8349	0.8840
30	0.6466	0.6317	0.6206	0.6692	0.6317	0.7744	0.8065	0.7348	0.7824
31	0.3077	0.2980	0.2908	0.3227	0.2980	0.3961	0.4196	0.3678	0.4019
32	0.3330	0.3227	0.3152	0.3488	0.3227	0.4256	0.4502	0.3961	0.4317
33	0.3382	0.3278	0.3202	0.3541	0.3278	0.4317	0.4564	0.4019	0.4378
34	0.3077	0.2980	0.2908	0.3227	0.2980	0.3961	0.4196	0.3678	0.4019
35	0.2197	0.2120	0.2064	0.2316	0.2120	0.2908	0.3102	0.2678	0.2956
36	0.4533	0.4409	0.4317	0.4723	0.4409	0.5631	0.5915	0.5285	0.5701
<i>i/j</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9
37	0.4378	0.4256	0.4166	0.4564	0.4256	0.5457	0.5737	0.5116	0.5526
38	0.4787	0.4659	0.4564	0.4983	0.4659	0.5915	0.6206	0.5561	0.5987
39	0.3990	0.3874	0.3789	0.4166	0.3874	0.5016	0.5285	0.4691	0.5083
40	0.4596	0.4471	0.4378	0.4787	0.4471	0.5701	0.5987	0.5353	0.5772
41	0.9100	0.9256	0.9373	0.8867	0.9256	0.7832	0.7532	0.8212	0.7757
42	0.9100	0.9256	0.9373	0.8867	0.9256	0.7832	0.7532	0.8212	0.7757
43	0.9149	0.9305	0.9422	0.8915	0.9305	0.7879	0.7578	0.8260	0.7804
44	0.8712	0.8867	0.8983	0.8480	0.8867	0.7457	0.7162	0.7832	0.7383
45	0.8954	0.9110	0.9227	0.8722	0.9110	0.7691	0.7392	0.8069	0.7616
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	0.8594	0.8430	0.8430	0.6654	0.4918	0.7904	0.8267	0.7466	0.8634
2	0.8430	0.8267	0.8267	0.6503	0.4787	0.7744	0.8105	0.7625	0.8471
3	0.8308	0.8146	0.8146	0.6391	0.4691	0.7625	0.7984	0.7744	0.8349
4	0.8840	0.8675	0.8675	0.6882	0.5116	0.8146	0.8512	0.7231	0.8881
5	0.8430	0.8267	0.8267	0.6503	0.4787	0.7744	0.8105	0.7625	0.8471
6	0.9958	0.9792	0.9792	0.7944	0.6060	0.9253	0.9626	0.6206	1.0000
7	0.9709	0.9875	0.9875	0.8267	0.6354	0.9584	0.9958	0.5915	0.9667
8	0.9543	0.9377	0.9377	0.7545	0.5701	0.8840	0.9211	0.6578	0.9584
9	0.9958	0.9875	0.9875	0.8025	0.6133	0.9335	0.9709	0.6133	0.9917

<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
10	.	0.9834	0.9834	0.7984	0.6096	0.9294	0.9667	0.6170	0.9958
11	0.9834	.	1.0000	0.8146	0.6243	0.9460	0.9834	0.6024	0.9792
12	0.9834	1.0000	.	0.8146	0.6243	0.9460	0.9834	0.6024	0.9792
13	0.7984	0.8146	0.8146	.	0.7984	0.8675	0.8308	0.4502	0.7944
14	0.6096	0.6243	0.6243	0.7984	.	0.6730	0.6391	0.3127	0.6060
15	0.9294	0.9460	0.9460	0.8675	0.6730	.	0.9626	0.5561	0.9253
16	0.9667	0.9834	0.9834	0.8308	0.6391	0.9626	.	0.5879	0.9626
17	0.6170	0.6024	0.6024	0.4502	0.3127	0.5561	0.5879	.	0.6206
18	0.9958	0.9792	0.9792	0.7944	0.6060	0.9253	0.9626	0.6206	.
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
19	0.3102	0.3004	0.3004	0.2045	0.1280	0.2700	0.2908	0.6060	0.3127
20	0.9875	0.9958	0.9958	0.8105	0.6206	0.9418	0.9792	0.6060	0.9834
21	0.8065	0.8227	0.8227	0.9917	0.7904	0.8758	0.8389	0.4564	0.8025
22	0.7664	0.7824	0.7824	0.9667	0.8308	0.8349	0.7984	0.4256	0.7625
23	0.7466	0.7625	0.7625	0.9460	0.8512	0.8146	0.7784	0.4107	0.7427
24	0.7427	0.7585	0.7585	0.9418	0.8553	0.8105	0.7744	0.4077	0.7387
25	0.7864	0.7704	0.7704	0.5987	0.4347	0.7192	0.7545	0.8186	0.7904
26	0.8308	0.8471	0.8471	0.9667	0.7664	0.9005	0.8634	0.4755	0.8267
27	0.8308	0.8471	0.8471	0.9667	0.7664	0.9005	0.8634	0.4755	0.8267
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
28	0.8105	0.8267	0.8267	0.9875	0.7864	0.8799	0.8430	0.4596	0.8065
29	0.8799	0.8963	0.8963	0.9170	0.7192	0.9501	0.9128	0.5150	0.8758
30	0.7784	0.7944	0.7944	0.9792	0.8186	0.8471	0.8105	0.4347	0.7744
31	0.3990	0.4107	0.4107	0.5561	0.7387	0.4502	0.4226	0.1798	0.3961
32	0.4286	0.4409	0.4409	0.5915	0.7784	0.4820	0.4533	0.1972	0.4256
33	0.4347	0.4471	0.4471	0.5987	0.7864	0.4885	0.4596	0.2008	0.4317
34	0.3990	0.4107	0.4107	0.5561	0.7387	0.4502	0.4226	0.1798	0.3961
35	0.2932	0.3028	0.3028	0.4256	0.5879	0.3356	0.3127	0.1217	0.2908
36	0.5666	0.5808	0.5808	0.7506	0.9501	0.6280	0.5951	0.2838	0.5631
<i>i/j</i>	10	11	12	13	14	15	16	17	18
37	0.5491	0.5631	0.5631	0.7309	0.9294	0.6096	0.5772	0.2723	0.5457
38	0.5951	0.6096	0.6096	0.7824	0.9834	0.6578	0.6243	0.3028	0.5915
39	0.5050	0.5183	0.5183	0.6806	0.8758	0.5631	0.5319	0.2439	0.5016

40	0.5737	0.5879	0.5879	0.7585	0.9584	0.6354	0.6024	0.2884	0.5701
41	0.7794	0.7644	0.7644	0.6026	0.4466	0.7162	0.7495	0.8480	0.7832
42	0.7794	0.7644	0.7644	0.6026	0.4466	0.7162	0.7495	0.8480	0.7832
43	0.7841	0.7691	0.7691	0.6069	0.4503	0.7208	0.7541	0.8432	0.7879
44	0.7420	0.7272	0.7272	0.5688	0.4179	0.6798	0.7125	0.8867	0.7457
45	0.7653	0.7504	0.7504	0.5898	0.4357	0.7025	0.7355	0.8625	0.7691
<i>i/j</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
1	0.4019	0.8471	0.6730	0.6354	0.6170	0.6133	0.9253	0.6959	0.6959
2	0.4136	0.8308	0.6578	0.6206	0.6024	0.5987	0.9418	0.6806	0.6806
3	0.4226	0.8186	0.6466	0.6096	0.5915	0.5879	0.9543	0.6692	0.6692
4	0.3846	0.8716	0.6959	0.6578	0.6391	0.6354	0.9005	0.7192	0.7192
5	0.4136	0.8308	0.6578	0.6206	0.6024	0.5987	0.9418	0.6806	0.6806
6	0.3127	0.9834	0.8025	0.7625	0.7427	0.7387	0.7904	0.8267	0.8267
7	0.2932	0.9834	0.8349	0.7944	0.7744	0.7704	0.7585	0.8594	0.8594
8	0.3382	0.9418	0.7625	0.7231	0.7036	0.6998	0.8308	0.7864	0.7864
9	0.3077	0.9917	0.8105	0.7704	0.7506	0.7466	0.7824	0.8349	0.8349
<i>i/j</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
10	0.3102	0.9875	0.8065	0.7664	0.7466	0.7427	0.7864	0.8308	0.8308
11	0.3004	0.9958	0.8227	0.7824	0.7625	0.7585	0.7704	0.8471	0.8471
12	0.3004	0.9958	0.8227	0.7824	0.7625	0.7585	0.7704	0.8471	0.8471
13	0.2045	0.8105	0.9917	0.9667	0.9460	0.9418	0.5987	0.9667	0.9667
14	0.1280	0.6206	0.7904	0.8308	0.8512	0.8553	0.4347	0.7664	0.7664
15	0.2700	0.9418	0.8758	0.8349	0.8146	0.8105	0.7192	0.9005	0.9005
16	0.2908	0.9792	0.8389	0.7984	0.7784	0.7744	0.7545	0.8634	0.8634
17	0.6060	0.6060	0.4564	0.4256	0.4107	0.4077	0.8186	0.4755	0.4755
18	0.3127	0.9834	0.8025	0.7625	0.7427	0.7387	0.7904	0.8267	0.8267
<i>i/j</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
19	.	0.3028	0.2082	0.1901	0.1815	0.1798	0.4564	0.2197	0.2197
20	0.3028	.	0.8186	0.7784	0.7585	0.7545	0.7744	0.8430	0.8430
21	0.2082	0.8186	.	0.9584	0.9377	0.9335	0.6060	0.9751	0.9751
22	0.1901	0.7784	0.9584	.	0.9792	0.9751	0.5701	0.9335	0.9335
23	0.1815	0.7585	0.9377	0.9792	.	0.9958	0.5526	0.9128	0.9128
24	0.1798	0.7545	0.9335	0.9751	0.9958	.	0.5491	0.9087	0.9087
25	0.4564	0.7744	0.6060	0.5701	0.5526	0.5491	.	0.6280	0.6280
26	0.2197	0.8430	0.9751	0.9335	0.9128	0.9087	0.6280	.	1.0000

27	0.2197	0.8430	0.9751	0.9335	0.9128	0.9087	0.6280	1.0000	.
<i>ij</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
28	0.2101	0.8227	0.9958	0.9543	0.9335	0.9294	0.6096	0.9792	0.9792
29	0.2439	0.8922	0.9253	0.8840	0.8634	0.8594	0.6730	0.9501	0.9501
30	0.1954	0.7904	0.9709	0.9875	0.9667	0.9626	0.5808	0.9460	0.9460
31	0.0641	0.4077	0.5491	0.5844	0.6024	0.6060	0.2655	0.5285	0.5285
32	0.0718	0.4378	0.5844	0.6206	0.6391	0.6428	0.2884	0.5631	0.5631
33	0.0735	0.4440	0.5915	0.6280	0.6466	0.6503	0.2932	0.5701	0.5701
34	0.0641	0.4077	0.5491	0.5844	0.6024	0.6060	0.2655	0.5285	0.5285
35	0.0397	0.3004	0.4196	0.4502	0.4659	0.4691	0.1867	0.4019	0.4019
36	0.1132	0.5772	0.7427	0.7824	0.8025	0.8065	0.3990	0.7192	0.7192
<i>ij</i>	19	20	21	22	23	24	25	26	27
37	0.1075	0.5596	0.7231	0.7625	0.7824	0.7864	0.3846	0.6998	0.6998
38	0.1229	0.6060	0.7744	0.8146	0.8349	0.8389	0.4226	0.7506	0.7506
39	0.0936	0.5150	0.6730	0.7114	0.7309	0.7348	0.3488	0.6503	0.6503
40	0.1156	0.5844	0.7506	0.7904	0.8105	0.8146	0.4048	0.7270	0.7270
41	0.4980	0.7681	0.6095	0.5755	0.5589	0.5556	0.9804	0.6302	0.6302
42	0.4980	0.7681	0.6095	0.5755	0.5589	0.5556	0.9804	0.6302	0.6302
43	0.4941	0.7728	0.6138	0.5797	0.5630	0.5597	0.9853	0.6346	0.6346
44	0.5296	0.7309	0.5755	0.5425	0.5264	0.5232	0.9412	0.5958	0.5958
45	0.5097	0.7541	0.5966	0.5630	0.5466	0.5433	0.9657	0.6172	0.6172
<i>ij</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
1	0.6768	0.7427	0.6466	0.3077	0.3330	0.3382	0.3077	0.2197	0.4533
2	0.6616	0.7270	0.6317	0.2980	0.3227	0.3278	0.2980	0.2120	0.4409
3	0.6503	0.7153	0.6206	0.2908	0.3152	0.3202	0.2908	0.2064	0.4317
4	0.6998	0.7664	0.6692	0.3227	0.3488	0.3541	0.3227	0.2316	0.4723
5	0.6616	0.7270	0.6317	0.2980	0.3227	0.3278	0.2980	0.2120	0.4409
6	0.8065	0.8758	0.7744	0.3961	0.4256	0.4317	0.3961	0.2908	0.5631
7	0.8389	0.9087	0.8065	0.4196	0.4502	0.4564	0.4196	0.3102	0.5915
8	0.7664	0.8349	0.7348	0.3678	0.3961	0.4019	0.3678	0.2678	0.5285
9	0.8146	0.8840	0.7824	0.4019	0.4317	0.4378	0.4019	0.2956	0.5701
<i>ij</i>	28	29	30	31	32	33	34	35	36
10	0.8105	0.8799	0.7784	0.3990	0.4286	0.4347	0.3990	0.2932	0.5666
11	0.8267	0.8963	0.7944	0.4107	0.4409	0.4471	0.4107	0.3028	0.5808
12	0.8267	0.8963	0.7944	0.4107	0.4409	0.4471	0.4107	0.3028	0.5808

13	0.9875	0.9170	0.9792	0.5561	0.5915	0.5987	0.5561	0.4256	0.7506
14	0.7864	0.7192	0.8186	0.7387	0.7784	0.7864	0.7387	0.5879	0.9501
15	0.8799	0.9501	0.8471	0.4502	0.4820	0.4885	0.4502	0.3356	0.6280
16	0.8430	0.9128	0.8105	0.4226	0.4533	0.4596	0.4226	0.3127	0.5951
17	0.4596	0.5150	0.4347	0.1798	0.1972	0.2008	0.1798	0.1217	0.2838
18	0.8065	0.8758	0.7744	0.3961	0.4256	0.4317	0.3961	0.2908	0.5631
i/j	28	29	30	31	32	33	34	35	36
19	0.2101	0.2439	0.1954	0.0641	0.0718	0.0735	0.0641	0.0397	0.1132
20	0.8227	0.8922	0.7904	0.4077	0.4378	0.4440	0.4077	0.3004	0.5772
21	0.9958	0.9253	0.9709	0.5491	0.5844	0.5915	0.5491	0.4196	0.7427
22	0.9543	0.8840	0.9875	0.5844	0.6206	0.6280	0.5844	0.4502	0.7824
23	0.9335	0.8634	0.9667	0.6024	0.6391	0.6466	0.6024	0.4659	0.8025
24	0.9294	0.8594	0.9626	0.6060	0.6428	0.6503	0.6060	0.4691	0.8065
25	0.6096	0.6730	0.5808	0.2655	0.2884	0.2932	0.2655	0.1867	0.3990
26	0.9792	0.9501	0.9460	0.5285	0.5631	0.5701	0.5285	0.4019	0.7192
27	0.9792	0.9501	0.9460	0.5285	0.5631	0.5701	0.5285	0.4019	0.7192
i/j	28	29	30	31	32	33	34	35	36
28	.	0.9294	0.9667	0.5457	0.5808	0.5879	0.5457	0.4166	0.7387
29	0.9294	.	0.8963	0.4885	0.5217	0.5285	0.4885	0.3678	0.6730
30	0.9667	0.8963	.	0.5737	0.6096	0.6170	0.5737	0.4409	0.7704
31	0.5457	0.4885	0.5737	.	0.9584	0.9501	1.0000	0.8349	0.7864
32	0.5808	0.5217	0.6096	0.9584	.	0.9917	0.9584	0.7944	0.8267
33	0.5879	0.5285	0.6170	0.9501	0.9917	.	0.9501	0.7864	0.8349
34	0.5457	0.4885	0.5737	1.0000	0.9584	0.9501	.	0.8349	0.7864
35	0.4166	0.3678	0.4409	0.8349	0.7944	0.7864	0.8349	.	0.6317
36	0.7387	0.6730	0.7704	0.7864	0.8267	0.8349	0.7864	0.6317	.
i/j	28	29	30	31	32	33	34	35	36
37	0.7192	0.6541	0.7506	0.8065	0.8471	0.8553	0.8065	0.6503	0.9792
38	0.7704	0.7036	0.8025	0.7545	0.7944	0.8025	0.7545	0.6024	0.9667
39	0.6692	0.6060	0.6998	0.8594	0.9005	0.9087	0.8594	0.6998	0.9253
40	0.7466	0.6806	0.7784	0.7784	0.8186	0.8267	0.7784	0.6243	0.9917
41	0.6129	0.6727	0.5856	0.2827	0.3051	0.3098	0.2827	0.2042	0.4123
42	0.6129	0.6727	0.5856	0.2827	0.3051	0.3098	0.2827	0.2042	0.4123
43	0.6172	0.6772	0.5898	0.2854	0.3080	0.3127	0.2854	0.2063	0.4158
44	0.5789	0.6372	0.5523	0.2613	0.2827	0.2871	0.2613	0.1873	0.3849

45	0.6000	0.6593	0.5730	0.2745	0.2966	0.3011	0.2745	0.1977	0.4019
<i>i/j</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
1	0.4378	0.4787	0.3990	0.4596	0.9100	0.9100	0.9149	0.8712	0.8954
2	0.4256	0.4659	0.3874	0.4471	0.9256	0.9256	0.9305	0.8867	0.9110
3	0.4166	0.4564	0.3789	0.4378	0.9373	0.9373	0.9422	0.8983	0.9227
4	0.4564	0.4983	0.4166	0.4787	0.8867	0.8867	0.8915	0.8480	0.8722
5	0.4256	0.4659	0.3874	0.4471	0.9256	0.9256	0.9305	0.8867	0.9110
6	0.5457	0.5915	0.5016	0.5701	0.7832	0.7832	0.7879	0.7457	0.7691
7	0.5737	0.6206	0.5285	0.5987	0.7532	0.7532	0.7578	0.7162	0.7392
8	0.5116	0.5561	0.4691	0.5353	0.8212	0.8212	0.8260	0.7832	0.8069
9	0.5526	0.5987	0.5083	0.5772	0.7757	0.7757	0.7804	0.7383	0.7616
<i>i/j</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
10	0.5491	0.5951	0.5050	0.5737	0.7794	0.7794	0.7841	0.7420	0.7653
11	0.5631	0.6096	0.5183	0.5879	0.7644	0.7644	0.7691	0.7272	0.7504
12	0.5631	0.6096	0.5183	0.5879	0.7644	0.7644	0.7691	0.7272	0.7504
13	0.7309	0.7824	0.6806	0.7585	0.6026	0.6026	0.6069	0.5688	0.5898
14	0.9294	0.9834	0.8758	0.9584	0.4466	0.4466	0.4503	0.4179	0.4357
15	0.6096	0.6578	0.5631	0.6354	0.7162	0.7162	0.7208	0.6798	0.7025
16	0.5772	0.6243	0.5319	0.6024	0.7495	0.7495	0.7541	0.7125	0.7355
17	0.2723	0.3028	0.2439	0.2884	0.8480	0.8480	0.8432	0.8867	0.8625
18	0.5457	0.5915	0.5016	0.5701	0.7832	0.7832	0.7879	0.7457	0.7691
<i>i/j</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
19	0.1075	0.1229	0.0936	0.1156	0.4980	0.4980	0.4941	0.5296	0.5097
20	0.5596	0.6060	0.5150	0.5844	0.7681	0.7681	0.7728	0.7309	0.7541
21	0.7231	0.7744	0.6730	0.7506	0.6095	0.6095	0.6138	0.5755	0.5966
22	0.7625	0.8146	0.7114	0.7904	0.5755	0.5755	0.5797	0.5425	0.5630
23	0.7824	0.8349	0.7309	0.8105	0.5589	0.5589	0.5630	0.5264	0.5466
24	0.7864	0.8389	0.7348	0.8146	0.5556	0.5556	0.5597	0.5232	0.5433
25	0.3846	0.4226	0.3488	0.4048	0.9804	0.9804	0.9853	0.9412	0.9657
26	0.6998	0.7506	0.6503	0.7270	0.6302	0.6302	0.6346	0.5958	0.6172
27	0.6998	0.7506	0.6503	0.7270	0.6302	0.6302	0.6346	0.5958	0.6172
<i>i/j</i>	37	38	39	40	41	42	43	44	45
28	0.7192	0.7704	0.6692	0.7466	0.6129	0.6129	0.6172	0.5789	0.6000
29	0.6541	0.7036	0.6060	0.6806	0.6727	0.6727	0.6772	0.6372	0.6593
30	0.7506	0.8025	0.6998	0.7784	0.5856	0.5856	0.5898	0.5523	0.5730

31	0.8065	0.7545	0.8594	0.7784	0.2827	0.2827	0.2854	0.2613	0.2745
32	0.8471	0.7944	0.9005	0.8186	0.3051	0.3051	0.3080	0.2827	0.2966
33	0.8553	0.8025	0.9087	0.8267	0.3098	0.3098	0.3127	0.2871	0.3011
34	0.8065	0.7545	0.8594	0.7784	0.2827	0.2827	0.2854	0.2613	0.2745
35	0.6503	0.6024	0.6998	0.6243	0.2042	0.2042	0.2063	0.1873	0.1977
36	0.9792	0.9667	0.9253	0.9917	0.4123	0.4123	0.4158	0.3849	0.4019
i/j	37	38	39	40	41	42	43	44	45
37	.	0.9460	0.9460	0.9709	0.3985	0.3985	0.4019	0.3717	0.3883
38	0.9460	.	0.8922	0.9751	0.4350	0.4350	0.4386	0.4067	0.4243
39	0.9460	0.8922	.	0.9170	0.3639	0.3639	0.3671	0.3386	0.3543
40	0.9709	0.9751	0.9170	.	0.4179	0.4179	0.4214	0.3903	0.4074
41	0.3985	0.4350	0.3639	0.4179	.	1.0000	0.9954	0.9628	0.9861
42	0.3985	0.4350	0.3639	0.4179	1.0000	.	0.9954	0.9628	0.9861
43	0.4019	0.4386	0.3671	0.4214	0.9954	0.9954	.	0.9582	0.9814
44	0.3717	0.4067	0.3386	0.3903	0.9628	0.9628	0.9582	.	0.9768
45	0.3883	0.4243	0.3543	0.4074	0.9861	0.9861	0.9814	0.9768	.

NOTE: To ensure overall protection level, only probabilities associated with pre-planned comparisons should be used.

ตารางผนวกที่ 7.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสตินและ  
ชิ้นส่วนเนื้อที่ต่างกันต่อค่าการลดปริมาณจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรที่มาจาก  
โรงฆ่าไม่มาตรฐาน

Source	df	SS	MS	F	Pr > F
Treatment	8	11.2056	5.4235	2.65	0.0001
A	3	9.8004	3.8480	1.43	0.0510
B	3	3.0058	1.0655	3.21	0.0001
A*B	4	8.2239	4.0003	1.02	0.5220
Error	36	3.4212	2.1021		
Corrected Total	44	14.0091			

C.V. = 3.1300

R-square = 2.6641

Root MSE = 1.0312

- หมายเหตุ A หมายถึง ระดับของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสติน 3 ระดับ คือ  
0% + 0 AU/ml 1% + pediocin PA - 1 640 AU/ml และ 1% + pediocin  
PA - 1 1280 AU/ml
- B หมายถึง ชิ้นส่วนเนื้อ 3 ชนิด คือ สันคอ (Boston shoulder) สันนอก (Loin)  
และสามชั้น (Belly)

ตารางผนวกที่ 7.14 แสดงค่า Least Squares Means และการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสลินและชิ้นส่วนเนื้อที่ต่างกันการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บนผิวเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

General Linear Models Procedure

Least Squares Means

Least Squares Means for effect TEMP\*TRT

Pr > |T| H0: LSMEAN(i)=LSMEAN(j)

Dependent Variable: COUNTS

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	.	0.3292	0.0731	0.7767	0.1617	0.0399	0.1035	0.1546	0.0282
2	0.3292	.	0.3970	0.4863	0.6628	0.2366	0.5000	0.5421	0.2029
3	0.0731	0.3970	.	0.1273	0.6787	0.7767	0.8614	0.8103	0.6628
4	0.7767	0.4863	0.1273	.	0.2488	0.0731	0.1746	0.1955	0.0531
5	0.1617	0.6628	0.6787	0.2606	.	0.4263	0.8103	0.8654	0.3970
6	0.0399	0.2606	0.7767	0.0731	0.4863	.	0.6471	0.6510	0.8786
7	0.1035	0.5000	0.8614	0.1656	0.8103	0.6471	.	0.9478	0.5421
8	0.1173	0.5421	0.8103	0.1955	0.8744	0.6010	0.9478	.	0.0600
9	0.0282	0.2029	0.6628	0.0531	0.3970	0.8786	0.5421	0.5000	.

ตารางผนวกที่ 7.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการใช้กรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสตินและ  
ชิ้นส่วนเนื้อที่ต่างกันต่อค่า pH ของเนื้อสุกรที่มาจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

Source	df	SS	MS	F	Pr > F
Treatment	8	28.7524	5.2166	2.84	0.0001
A	3	12.2951	3.0442	1.66	0.0510
B	3	13.2444	1.1221	3.08	0.0601
A*B	4	13.2455	4.0542	1.65	0.1420
Error	36	36.2001	2.1526		
Corrected Total	44	44.2100			

C.V. = 7.6549

R-square = 3.4655

Root MSE = 1.3700

หมายเหตุ

- A หมายถึง ระดับของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสติน 3 ระดับ คือ  
0% + 0 AU/ml 1% + pediocin PA - 1 640 AU/ml และ 1% + pediocin  
PA - 1 1280 AU/ml
- B หมายถึง ชิ้นส่วนเนื้อ 3 ชนิด คือ สันคอ (Boston shoulder) สันนอก (Loin)  
และสามชั้น (Belly)

ตารางผนวกที่ 7.16 แสดงค่า Least Squares Means และการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสตินและชิ้นส่วนเนื้อที่ต่างกันต่อค่า pH ของเนื้อสุกรจากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

General Linear Models Procedure

Least Squares Means

Least Squares Means for effect TRT\*PARTS

Pr > |T| H0: LSMEAN(i)=LSMEAN(j)

Dependent Variable: pH

i/j	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	.	0.0123	0.0123	0.1226	0.0001	0.1612	0.0679	0.1838	0.3343
2	0.0123	.	0.0001	0.2989	0.0017	0.0002	0.4564	0.2088	0.0009
3	0.0123	0.0001	.	0.0002	0.0001	0.2362	0.0001	0.0003	0.1064
4	0.1226	0.2989	0.0002	.	0.0001	0.0047	0.7650	0.8226	0.0148
5	0.0001	0.0017	0.0001	0.0001	.	0.0001	0.0002	0.0001	0.0001
6	0.1612	0.0002	0.2362	0.0047	0.0001	.	0.0021	0.0085	0.6542
7	0.0679	0.4564	0.0001	0.7650	0.0002	0.0021	.	0.6014	0.0070
8	0.1838	0.2088	0.0003	0.8226	0.0001	0.0085	0.6014	.	0.0253
9	0.3343	0.0009	0.1064	0.0148	0.0001	0.6542	0.0070	0.0253	.

ตารางผนวกที่ 7.17 แสดงค่า Analysis of variance และการเปรียบเทียบอิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแลคติกพร้อมกับแบคทีเรียโอสลินและชิ้นส่วนของเนื้อที่ต่างกันต่อค่าสีของเนื้อสุกร (L\*) จากโรงฆ่าไม่มาตรฐาน

Source	DF	SS	MS	F value	Pr > F
Model	9	12.45	12.47	0.46	0.5800
Error	11	29.59	26.90		
Corrected Total	20	30.84			

#### Analysis of Variance Procedure

Duncan's Multiple Range Test for variable: COLOR

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 11 MSE= 2.690353

WARNING: Cell sizes are not equal.

Harmonic Mean of cell sizes= 6.461538

Number of Means 2

Critical Range 2.005

#### Analysis of Variance Procedure

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	52.070	7	1
B	54.110	7	2
C	56.070	7	3

## ประวัติผู้เขียน

นางสาว ชันัญญา กงทะสร เกิดเมื่อวันที่ 25 มกราคม 2522 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2542